

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAUN TURI MERAH  
(*Sesbania grandiflora* L.Pers) TERHADAP PENURUNAN  
KADAR TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  DAN JUMLAH KOLONI BAKTERI  
PADA GINJAL *Mus musculus* NIFAS YANG  
DIINFEKSI *Streptococcus agalactiae***

**TESIS**

**Untuk Memenuhi Persyaratan  
Memperoleh Gelar Magister**



**OLEH :  
HUSNA MAULIDA  
146070400111006**

**PROGRAM STUDI MAGISTER KEBIDANAN  
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS  
BRAWIJAYA  
MALANG  
2016**

## TESIS

# **PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAUN TURI MERAH (*Sesbania grandiflora* L.Pers) TERHADAP PENURUNAN KADAR TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ DAN JUMLAH KOLONI BAKTERI PADA GINJAL *Mus musculus* NIFAS YANG DIINFEKSI *Streptococcus agalactiae***

Oleh :  
**HUSNA MAULIDA**  
146070400111006

Dipertahankan didepan penguji  
Pada tanggal : 29 September 2016  
Dan dinyatakan memenuhi syarat

### KOMISI PEMBIMBING

  
**Dr.dr.Sri Poeranto, Sp.Par.K, M.Kes**  
NIP. 195205061980021002  
Ketua

  
**Dr. dr. Kusnarman Keman, SpOG(K)**  
NIP. 195407301982031004  
Anggota

Malang, 04 OCT 2016  
Universitas Brawijaya  
Fakultas Kedokteran  
Dekan,



  
**Dr. dr. Sri Andarini, M.Kes**  
NIP 195804141987012001

## TESIS

# **PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAUN TURI MERAH (*Sesbania grandiflora* L.Pers) TERHADAP PENURUNAN KADAR TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ DAN JUMLAH KOLONI BAKTERI PADA GINJAL *Mus musculus* NIFAS YANG DIINFEKSI *Streptococcus agalactiae***

Oleh:


**HUSNA MAULIDA**  
146070400111006

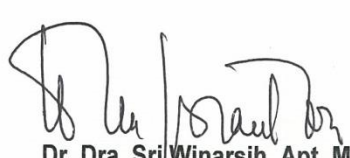
Dipertahankan didepan penguji  
Pada tanggal : 29 September 2016  
Dan dinyatakan memenuhi syarat

**KOMISI PEMBIMBING**

  
**Dr. dr. Sri Poeranto, Sp.Par.K, M.Kes**  
NIP. 195205061980021002  
Ketua

  
**Dr. dr. Kusnarman Keman, SpOG(K)**  
NIP. 195407301982031004  
Anggota Penguji

  
**Dr. dr. Yuyun Yueniwati PW, M.Kes, SpRad(K)**  
NIP. 196810311996012001  
Anggota Penguji

  
**Dr. Dra. Sri Winarsih, Apt, Msi**  
NIP. 195408231981032001  
Anggota Penguji



## PERNYATAAN ORISINALITAS TESIS

Saya menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa sepanjang pengetahuan saya, di dalam Naskah TESIS ini tidak terdapat karya ilmiah yang pernah diajukan oleh orang lain untuk memperoleh gelar akademik di suatu Perguruan Tinggi, dan tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis di kutip dalam naskah ini dan disebutkan dalam sumber kutipan dan daftar pustaka.

Apabila ternyata di dalam naskah TESIS ini dapat dibuktikan terdapat unsur-unsur PLAGIASI, saya bersedia tesis ini digugurkan dan gelar akademik yang telah saya peroleh (MAGISTER) dibatalkan, serta diproses sesuai dengan peraturan perundang-undangan yang berlaku. (UU No. 20 Tahun 2003, Pasal 25 Ayat 2 dan pasal 70)

Malang, 29 September 2016

Mahasiswa,



Nama : Husna Maulida  
NIM : 146070400111006  
PS : Magister Kebidanan  
Fak : Kedokteran UB

Syukur alhamdulillah kepada Allah SWT yang telah memberikan nikmat yang tak terhingga sampai detik ini

Karya Ilmiah ini saya tujukan kepada keluargaku tersayang:

- ✚ Ayah (Iskandar) dan mama (Darnisah)
- ✚ Bapak (Nasruddin (Alm.)) dan Ibu (Yusrina)
- ✚ Suamiku (Hari Muntazar) dan Anakku (Asyraf Khairul Azzam)
- ✚ Adik-adikku (Hendra Saputra dan Irvan Rahmat)



## RINGKASAN

### Husna Maulida

Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Turi Merah (*Sesbania grandiflora* L. Pers) terhadap Penurunan Kadar TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  dan Jumlah Koloni Bakteri pada Ginjal *Mus musculus* Nifas yang Diinfeksi *Streptococcus agalactiae*, Program Studi Magister Kebidanan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Ketua Komisi Pembimbing: Dr. dr. Sri Poeranto Sp.Par.K, M.Kes; Anggota: Dr. dr. Kusnarman Keman SpOG (K)

Infeksi nifas merupakan salah satu penyebab morbiditas dan mortalitas maternal secara global. Infeksi nifas dapat terjadi dikarenakan masuknya organisme patogen melalui luka uterus atau jalan lahir. Salah satu bakteri yang sering diisolasi pada infeksi nifas adalah *Streptococcus agalactiae*. *Streptococcus agalactiae* menghasilkan eksotoksin dan komponen dinding sel yang terdiri dari *Peptidoglycan* (PePG) dan *Lipoteichoic acid* (LTA) yang mampu menyebabkan dimulainya respon inflamasi. Pada respon inflamasi ini makrofag mensekresi sitokin proinflamasi seperti *Tumor Necrosis Factor-Alpha* (TNF- $\alpha$ ) dan *Interleukin 1-Beta* (IL-1 $\beta$ ). *Streptococcus agalactiae* diketahui resisten terhadap beberapa antibiotik, sehingga diperlukan alternatif lain dengan memanfaatkan tanaman yang berasal dari bahan alami, salah satunya daun turi merah yang diketahui memiliki efek sebagai antibakteri. Penelitian ini bertujuan menganalisa pengaruh pemberian ekstrak daun turi merah terhadap penurunan jumlah koloni bakteri pada ginjal, kadar TNF- $\alpha$  dan IL-1 $\beta$  *Mus musculus* nifas yang diinfeksi *Streptococcus agalactiae*.

Jenis penelitian adalah *True experimental* dengan rancangan *Post test only control group design*. Menggunakan 24 mencit yang dibagi ke dalam 4 kelompok yakni kontrol: *Streptococcus agalactiae* dengan dosis  $5 \times 10^3$  CFU/mL secara intravaginal, kelompok perlakuan dosis ekstrak daun turi 125 mg/kgBB (P1), 250 mg/kgBB (P2), 500 mg/kgBB (P3) masing-masing dosis diberikan sebanyak 1 cc/hari. *Streptococcus agalactiae* diberikan segera setelah melahirkan atau 0 s/d 12 jam postpartum mencit. Sedangkan ekstrak daun turi merah diberikan setelah 2 jam pemberian *Streptococcus agalactiae*. Kadar TNF- $\alpha$  dan IL-1 $\beta$  diukur dengan menggunakan metode ELISA dan jumlah koloni bakteri dengan metode kultur.

Berdasarkan hasil uji statistik menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun turi merah dosis 125, 250, dan 500 mg/kgBB mampu menurunkan kadar TNF- $\alpha$  dan IL-1 $\beta$  pada mencit nifas yang diinfeksi *Streptococcus agalactiae*. Hal ini menunjukkan ekstrak daun turi merah sebagai antibakteri, dimana diketahui kandungan flavonoid, saponin dan tanin dalam ekstrak daun turi merah yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri dan bahkan lisisnya sel bakteri. Sehingga hal ini berpengaruh terhadap penurunan sekresi sitokin proinflamasi seperti TNF- $\alpha$  dan IL-1 $\beta$  sebagai akibat berkurangnya aktivasi sistem imun. Berdasarkan hasil pemeriksaan jumlah koloni bakteri *Streptococcus agalactiae* dengan metode kultur menunjukkan tidak ada koloni bakteri *Streptococcus agalactiae* yang ditemukan pada organ ginjal mencit yang diinfeksi bakteri *Streptococcus agalactiae*. baik pada kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan pemberian ekstrak daun turi dosis 125, 250, 500 mg/kgBB. Hasil ini kemungkinan disebabkan oleh *clearance* yang terjadi dihati ketika bakteri ada di darah melewati hati. Kemungkinan lain adalah dosis dan masa inkubasi yang digunakan dalam penelitian ini yang mungkin kurang untuk bakteri *Streptococcus agalactiae* dapat menginfeksi organ ginjal mencit, sehingga dibutuhkan dosis yang lebih besar dan masa inkubasi yang lama untuk bakteri ini mampu menginfeksi organ ginjal. Berdasarkan Penelitian ini menyimpulkan bahwa pemberian ekstrak daun turi merah terbukti menurunkan kadar TNF- $\alpha$  dan IL-1 $\beta$  dan pemberian ekstrak daun turi merah tidak terbukti menurunkan jumlah koloni bakteri pada organ ginjal pada *Mus musculus* nifas yang diinfeksi *Streptococcus agalactiae*.

## SUMMARY

### Husna Maulida

The effect of Leaves Extract of *Sesbania grandiflora* L. Pers to the Decrease of TNF  $\alpha$ , IL-1 $\beta$  Level, and The Number of Bacteria Colonies in Puerperal *Mus Musculus* Infected *Streptococcus Agalactiae*. Master of Midwifery Program of Faculty of Medicine, Universitas Brawijaya. Chairman of Supervisor Commission: Dr. dr. Sri Poeranto Sp.Par.K, M.Kes; Members: Dr. dr. Kusnarman Keman SpOG (K).

Puerperal infection is one of the maternal morbidity and mortality causes. Puerperal infection occurred due to the entry of pathogenic organisms through either uterus or birth canal injury. Any of the bacteria that is isolated from puerperal infection are *Streptococcus agalactiae*. *Streptococcus agalactiae* produce exotoxin and cell wall component consisting of peptidoglycan (PePG) and *Lipoteichoic acid* (LTA) that causing inflammatory response. Macrophages play a role in this inflammatory response by secreting proinflammatory cytokines such as *Tumor Necrosis Factor-Alpha* (TNF- $\alpha$ ) and *Interleukin 1-Beta* (IL-1 $\beta$ ). *Streptococcus agalactiae* were known resistant to some antibiotics, therefore the alternative medication was required to prevent the infection. *Sesbania grandiflora* L. Pers is one of natural material that was known has antibiotics effect. The objective of this study was to analyze the administration of leaves extract of *Sesbania grandiflora* L. Pers effect to the decrease of TNF  $\alpha$ , IL-1 $\beta$  level, and the number of bacteria colonies in renal puerperal *Mus Musculus* Infected *Streptococcus Agalactiae*.

This study used true experimental, *posttest-only control-group* design which utilizes 24 *Mus Musculus* which are divided into 4 sample groups. The control group (P0) received  $5 \times 10^3$  CFU/mL of *Streptococcus agalactiae* per vaginam. Treatment groups were infected by  $5 \times 10^3$  CFU/mL of *Streptococcus agalactiae* then received leaves extract of *Sesbania grandiflora* L. Pers responsible for each doses 125 mg/kgBW for treatment group I (P1), 250 mg/kgBW for treatment group II (P2), 500 mg/kgBW for treatment group III (P3). *Streptococcus agalactiae* were administered immediately after bearing or within 12 hours postpartum of *Mus Musculus*. The leaves extract of *Sesbania grandiflora* L. Pers were administered after 2 hours of *Streptococcus agalactiae* administration. TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$  level were quantified by ELISA while the number of bacteria colonies by culture method.

According to statistic analyzes was shown that the administration of 125, 250, and 500 mg/kgBW of leaves extract of *Sesbania grandiflora* L. Pers decreased TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$  level in Puerperal *Mus Musculus* infected *Streptococcus Agalactiae*. This result proved leaves extract of *Sesbania grandiflora* L. Pers as an antibiotic agent through its compound of flavonoid, saponin and tanin. These compounds obstructed bacterial growth and caused bacterial lysis. This affect to proinflammatory cytokines secretion such as TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$  as the result of immune system activity. In this condition, TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$  level were low relatively than without antimicrobial substance. According to the result of culture method, there were not found the bacterial colonies of *Streptococcus agalactiae* in renal of *Streptococcus agalactiae* infection. This could be caused by hepatic clearance when the bacteria were in the blood through the liver. Another possibility are the doses were too small and the incubation period of *Streptococcus agalactiae* were too short to register meaningful effect on *Mus Musculus* renal. Therefore higher doses and longer incubation period were required to infect the renal. This study suggest that the administration of leaves extract of *Sesbania grandiflora* L. Pers decreased TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$  level and do not decreased bacterial colonies of *Streptococcus agalactiae* in renal Puerperal *Mus Musculus* Infected *Streptococcus Agalactiae*.

## KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT atas segala limpahan, rahmat dan hidayahNya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan tesis dengan judul **“Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Turi Merah (*Sesbania grandiflora* L. Pers) terhadap Penurunan Kadar TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  dan Jumlah Koloni Bakteri pada Ginjal *Mus musculus* Nifas yang Diinfeksi *Streptococcus agalactiae*”**.

Dengan selesainya tesis ini, penulis menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Prof. Dr. Ir. Mohammad Bisri, MS., selaku Rektor Universitas Brawijaya Malang beserta segenap jajarannya atas kesempatan dan fasilitas pendidikan yang disediakan selama menempuh pembelajaran di Program Studi Magister Kebidanan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.
2. Dr. dr. Sri Andarini, M.Kes., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang beserta segenap jajarannya yang telah memberikan ijin, fasilitas dan berbagai kebijakan selama menempuh pembelajaran di Program Studi Magister Kebidanan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.
3. Dr. dr. Nurdiana, M.Kes., selaku Ketua Program Studi Magister Kebidanan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang beserta segenap staf yang telah memberikan bantuan, perhatian dan motivasi selama pembelajaran hingga penyelesaian tesis ini
4. Dr. dr. Sri Poeranto, Sp.Par. K, M.Kes selaku pembimbing I yang telah memberikan ilmu, bimbingan dan motivasi selama penyusunan tesis ini.



5. Dr. dr. Kusnarman Keman, SpOG(K), selaku pembimbing II yang telah memberikan ilmu, bimbingan, motivasi dan masukan selama penyusunan tesis ini.
6. Dr. dr. Yuyun Yueniwati PW, M.Kes, SpRad(K) selaku penguji I yang telah memberikan masukan dan arahan demi kesempurnaan tesis ini.
7. Dr. Dra. Sri Winarsih, Apt, MSi selaku penguji II yang telah banyak memberikan masukan dan arahan demi kesempurnaan tesis ini.
8. Ayahanda, Ibunda dan adik tersayang, terima kasih atas doa, kasih sayang, motivasi dan dukungan baik moril maupun materiil selama menempuh pendidikan Magister Kebidanan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
9. Suami dan anakku tercinta, terima kasih selama ini selalu mendampingi, memberikan bimbingan, arahan, doa, cinta dan kasih sayang yang tulus selama menempuh pendidikan Magister Kebidanan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
10. Teman-teman Tim *Streptococcus agalactiae* (Heppy Rina Mardiana, Tut Rayani Aksohini dan R. Maria Veronika Widia Trilupi) atas kebersamaan, kekompakan, kerja keras, dukungan dan semangat yang luar biasa selama penyusunan tesis ini.
11. Rekan-rekan Mahasiswa Program Studi Magister Kebidanan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Angkatan 2014. Terima kasih atas dukungan, semangat dan kebersamaan selama menempuh pendidikan Magister Kebidanan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

Penulis menyadari masih terdapat kekurangan sehingga saran untuk perbaikan sangat diharapkan demi penyempurnaan sehingga tulisan ini bermanfaat bagi yang membutuhkan.

Malang, September 2016

Penulis

## DAFTAR ISI

LEMBAR PERSETUJUAN .....	ii
LEMBAR PENGESAHAN.....	iii
PERNYATAAN ORISINALITAS TESIS .....	iv
HALAMAN PERUNTUKAN .....	v
RINGKASAN .....	vi
SUMMARY .....	vii
KATA PENGANTAR.....	viii
DAFTAR ISI .....	x
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR GAMBAR .....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xv
DAFTAR SINGKATAN .....	xvi
BAB 1 PENDAHULUAN .....	1
1.1 Latar belakang .....	1
1.2 Rumusan masalah .....	4
1.3 Tujuan penelitian .....	5
1.4 Manfaat penelitian .....	5
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA .....	7
2.1 Infeksi nifas .....	7
2.2 Bakteri penyebab infeksi nifas.....	8
2.3 <i>Streptococcus agalactiae</i> .....	10
2.3.1 Pengertian .....	10
2.3.2 Klasifikasi.....	12
2.3.3 Patogenisitas <i>Streptococcus agalactiae</i> .....	13
2.3.4 Faktor virulensi <i>Streptococcus agalactiae</i> .....	14
2.3.5 Respon imun pada bakteri <i>Streptococcus agalactiae</i> .....	16
2.4 Inflamasi.....	20
2.5 <i>Tumor Necrosis Factor-Alfa</i> (TNF- $\alpha$ ) .....	20
2.5.1 Definisi <i>Necrosis Factor-Alfa</i> (TNF- $\alpha$ ) .....	20
2.5.2 Peran TNF- $\alpha$ pada infeksi.....	22
2.6 Interleukin-1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ ).....	24
2.6.1 Definisi Interleukin-1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ ).....	24
2.6.2 Peran IL-1 pada infeksi .....	25

2.7 Tanaman Turi Merah ( <i>Sesbania grandiflora</i> L.Pers).....	27
2.7.1 Morfologi turi merah .....	28
2.7.2 Kandungan kimia .....	30
2.7.3 Bahan aktif daun turi merah sebagai antibakteri .....	31
2.7.4 Penelitian tentang tanaman turi sebagai antibakteri.....	39
2.7.5 Peran lain dari kandungan dari tanaman turi merah .....	40
2.8 Sistem imun mukosa Traktus genitalis wanita .....	41
2.9 Mencit ( <i>Mus musculus</i> ) .....	43
2.9.1 Karakteristik mencit .....	45
2.9.2 Nifas mencit .....	46
 BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS .....	 48
3.1 Kerangka Teori.....	48
3.2 Kerangka Konsep.....	49
3.3 Penjelasan Kerangka Konsep .....	50
3.4 Hipotesis .....	51
 BAB 4 METODE PENELITIAN .....	 52
4.1 Jenis dan Desain Penelitian .....	52
4.2 Tempat dan Waktu Penelitian .....	52
4.3 Sampel Penelitian dan Replikasi .....	53
4.4 Variabel Penelitian .....	55
4.5 Definisi Operasional .....	56
4.6 Bahan dan Alat Penelitian .....	57
4.7 Prosedur Penelitian .....	59
4.8 Alur Penelitian .....	73
4.9 Teknik Analisa Data .....	74
 BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISA DATA .....	 75
5.1 Gambaran Umum Hasil Penelitian .....	75
5.2 Hasil Ekstrak Daun Turi Merah ( <i>Sesbania grandiflora</i> L.Pers) .....	77
5.3 Hasil Uji Prasyarat Parametrik.....	77
5.4 Hasil Uji Perbandingan Pemberian Ekstrak Daun Turi Merah terhadap Kadar TNF- $\alpha$ .....	79
5.5 Hasil Uji Perbandingan Pemberian Ekstrak Daun Turi Merah Terhadap Kadar IL-1 $\beta$ .....	82
5.6 Hasil Uji Pemberian Ekstrak Daun Turi Merah terhadap Jumlah Koloni Bakteri pada Organ Ginjal .....	85
 BAB 6 PEMBAHASAN .....	 88
6.1 Ekstraksi dan Uji Fitokimia Daun Turi Merah.....	88
6.2 Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Turi Merah pada <i>Mus</i> <i>musculus</i> Nifas yang Diinfeksi <i>Streptococcus agalactiae</i> .....	89
6.2.1 Pengaruh pemberian ekstrak daun turi merah terhadap kadar TNF- $\alpha$ .....	89
6.2.2 Pengaruh pemberian ekstrak daun turi merah terhadap	

kadar IL-1 $\beta$ .....	93
6.2.3 Pengaruh pemberian ekstrak daun turi merah terhadap jumlah koloni bakteri pada organ ginjal .....	95
6.2.4 Pengaruh pemberian ekstrak daun turi merah terhadap kadar TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ dan jumlah koloni .....	98
6.3 Keterbatasan Penelitian .....	99
 BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN .....	101
7.1 Kesimpulan .....	101
7.2 Saran .....	101
 DAFTAR PUSTAKA .....	103
 LAMPIRAN.....	110
 RIWAYAT HIDUP.....	134

## DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Fitokimia <i>Sesbania grandiflora</i> dan <i>Pistia stratiotes</i> .....	31
Tabel 5.1	Karakteristik Mencit Model Infeksi Nifas 24 Jam Berdasarkan Jumlah Leukosit .....	76
Tabel 5.2	Hasil Uji Asumsi Normalitas dan Homogenitas Ragam .....	78
Tabel 5.3	Uji Normalitas Data dan Homogenitas Ragam Variabel Kadar TNF- $\alpha$ yang telah Ditrasnformasi .....	79
Tabel 5.4	Perbandingan Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Turi Merah terhadap Kadar TNF- $\alpha$ yang Diinjeksi <i>Streptococcus agalactiae</i> .	80
Tabel 5.5	Perbandingan Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Turi Merah terhadap Kadar IL-1 $\beta$ yang Diinjeksi <i>Streptococcus agalactiae</i> ...	83
Tabel 5.6	Pemeriksaan Koloni Bakteri dalam Darah Mencit pada Kelompok Perlakuan.....	86

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 <i>Streptococcus agalactiae</i> .....	11
Gambar 2.2 Struktur Serotipe.....	14
Gambar 2.3 Struktur Dinding Sel Bakteri Gram Positif .....	16
Gambar 2.4 Respon Imun Adaptif terhadap Mikroba Ekstraseluler .....	19
Gambar 2.5 Peran Sitokin pada Inflamasi Lokal dan Sistemik .....	27
Gambar 2.6 Batang Tanaman Turi Merah.....	29
Gambar 2.7 Bunga Tanaman Turi.....	30
Gambar 2.8 Metabolisme Fenol dari Tanaman .....	34
Gambar 2.9 Mencit ( <i>Mus musculus</i> ).....	45
Gambar 3.1 Kerangka Teori Penelitian .....	48
Gambar 3.2 Kerangka Konsep Penelitian .....	49
Gambar 4.1 Bagan Alur Penelitian .....	73
Gambar 5.1 Histogram Rata-rata Kadar TNF- $\alpha$ Kelompok Kontrol dan Kelompok Perlakuan.....	81
Gambar 5.2 Histogram Rata-rata Kadar IL-1 $\beta$ Kelompok Kontrol dan Kelompok Perlakuan.....	84
Gambar 5.3 Hasil Kultur Koloni Bakteri <i>Streptococcus agalactiae</i> pada Organ Ginjal Mencit Nifas.....	86



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Surat Keterangan Kelaikan Etik .....	110
Lampiran 2	Surat Keterangan Ekstraksi Daun Turi Merah ( <i>Sesbania grandiflora L.Pers</i> ).....	111
Lampiran 3	Surat Keterangan Uji Kualitatif Fitokimia Ekstrak Daun Turi Merah ( <i>Sesbania grandiflora L.Pers</i> ).....	112
Lampiran 4	Surat Keterangan Pembelian Hewan Coba.....	113
Lampiran 5	Hasil Pemeriksaan Mikrobiologi Klinik Bakteri <i>Streptococcus agalactiae</i> di Darah .....	114
Lampiran 6	Berat Badan Mencit.....	118
Lampiran 7	Pemberian <i>Streptococcus agalactiae</i> pada Mencit Nifas.....	120
Lampiran 8	Pemberian <i>Streptococcus agalactiae</i> dan Ekstrak Daun Turi Merah ( <i>Sesbania grandiflora L.Pers</i> ) pada Mencit Nifas .....	121
Lampiran 9	Analisa Data Statistik .....	122
Lampiran 10	Dokumentasi Penelitian .....	127

## DAFTAR SINGKATAN

APC	: <i>Antigen Presenting Cells</i>
ATP	: <i>Adenosin Trifosfat</i>
BB	: Berat Badan
BHIB	: <i>Brain Heart Infussion Broth</i>
CFU	: <i>Colony-Forming Unit</i>
CMI	: <i>Cell-mediated Immune</i>
DL	: Darah Lengkap
DNA	: <i>Deoxyribonucleic acid</i>
IFN- $\gamma$	: Interferon Gamma
IgA	: Immunoglobulin A
IgG	: Immunoglobulin G
IgM	: Immunoglobulin M
IL	: <i>Interleukin</i>
IL-1 $\beta$	: <i>Interleukin 1 Beta</i>
KBM	: Kadar Bunuh Minimum
KCs	: <i>Kupffer cells</i>
KHM	: Kadar Hambat Minimun
LPS	: <i>Lipopolysacharida</i>
LSD	: Least Significance Different
LTA	: <i>Lipoteichoic acid</i>
MHC-II	: <i>Major Histocompatibility Complex-II</i>
NF-kB	: <i>Nuclear Factor-kappa Beta</i>
NK	: <i>Natural Killer</i>
NLR	: <i>NOD-Like Receptor</i>
OD	: <i>Optical Density</i>

PAMP	: <i>Pathogenassociated Molecular Patterns</i>
PBS	: <i>Phosphate Buffer Saline</i>
PepG	: <i>Peptidoglycan</i>
PRR	: <i>Pattern Recognition-Receptor</i>
PRRs	: <i>Pathogenrecognition Receptors</i>
RANTES	: <i>Regulated on Activation Normal T Cell Expressed and Secreted</i>
RNA	: <i>Ribonucleic acid</i>
Sel M	: <i>Sel Mikrofold</i>
sIgA	: <i>Sekretori Immunoglobulin A</i>
SPSS	: <i>Statistical Package For The Social Sciences</i>
TGF- $\beta$	: <i>Transforming Growth Factor Beta</i>
Th	: <i>T helper</i>
TLRs	: <i>Toll-like Receptor</i>
TNF- $\alpha$	: <i>Tumor Necrosis Factor-Alpha</i>
TSST	: <i>Toxin Shock Syndrome Toxin</i>

# **BAB 1**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1 LATAR BELAKANG**

Infeksi nifas merupakan salah satu penyebab morbiditas dan mortalitas maternal secara global. Meskipun pada laporan sebelumnya di *United states* telah menunjukkan adanya penurunan dari kejadian infeksi nifas sejak awal abad ke-20, namun sampai saat ini infeksi nifas masih menyumbang 11% dari kematian maternal (Deborah, 2013). Berdasarkan data Direktorat Kesehatan Indonesia (DKI) tahun 2013, penyebab kematian ibu di Indonesia antara lain disebabkan oleh perdarahan sebesar 30,3%, hipertensi sebesar 27,1%, infeksi sebesar 7.3%, dan lain-lain sebesar 40.8%. bila di tinjau dari data tersebut, Angka Kematian Ibu yang disebabkan oleh infeksi masih cukup tinggi, baik infeksi yang terjadi saat kehamilan ataupun pada masa nifas. Tingginya kejadian infeksi pada masa nifas dapat disebabkan oleh beberapa faktor, salah satunya adalah tenaga kesehatan. Data Direktorat Kesehatan Indonesia (DKI) tahun 2013, cakupan pertolongan persalinan oleh tenaga kesehatan sebesar 90.88%, dan cakupan kunjungan nifas sebesar 86.64%. hal ini menunjukkan bahwa infeksi pada masa nifas dapat terjadi dikarenakan kurang efektifnya asuhan dari tenaga kesehatan yang diberikan kepada ibu nifas (Kementerian Kesehatan RI, 2014).

Infeksi nifas dapat terjadi karena ketidakseimbangan flora normal pada saluran genitalia atau masuknya organisme patogen melalui luka uterus atau jalan lahir (Mason *et al.*, 2012). Bakteri yang paling umum diisolasi pada infeksi nifas salah satunya yaitu bakteri *Streptococcus agalactiae* (Popescu, 2013). Penelitian Nahid (2009) mengungkapkan bahwa sekitar 6077 pasien di Rumah Sakit Khanevadah Iran tahun 2003 sampai tahun 2008 didapatkan 461 pasien

(7.59%) mengalami infeksi nifas, salah satunya disebabkan oleh bakteri *Streptococcus agalactiae*. Bakteri *Streptococcus agalactiae* ( $\beta$ -haemolytic *Streptococcus* grup B) merupakan bakteri Gram positif yang secara normal ditemukan pada vagina, usus, dan orofaring manusia yang dapat menyebabkan penyakit pada manusia seperti mastitis, chorioamnionitis, bacteremia, endometritis, infeksi nifas dan sepsis. Selain itu bakteri ini juga penyebab infeksi pada neonatal seperti pneumonia, sepsis, dan meningitis (Maroney, 2005; Koenig *et al.*, 2009).

Bakteri *Streptococcus agalactiae* termasuk bakteri ekstraseluler sehingga bakteri ini mampu bereplikasi diluar sel inang. Kebanyakan bakteri *Streptococcus agalactiae* bersifat patogen karena mampu menginduksi terjadinya inflamasi yang dapat menyebabkan kerusakan jaringan ditempat infeksi, selain itu bakteri ini juga menghasilkan toxin berupa eksotoksin. Eksotoksin adalah toksin yang disintesa di dalam sel mikroba kemudian dikeluarkan ke substrat sekelilingnya. Respon inflamasi dimulai dengan adanya pelepasan eksotoksin dan komponen antigen sel. Reaksi inflamasi ini akan direspon oleh makrofag dengan mensekresi sitokin pro inflamasi. Sitokin proinflamasi yang berperan sebagai indikator terjadinya inflamasi di antaranya adalah *Tumor Necrosis Factor-Alpha* (TNF- $\alpha$ ) dan *Interleukin 1-Beta* (IL-1 $\beta$ ) (Abbas dan Lichtman, 2015). Peningkatan kedua sitokin tersebut akan mengaktifkan banyak sel-sel imun dan merekrutnya ke daerah infeksi. Pengeluaran sitokin proinflamasi terutama TNF- $\alpha$  dan IL-1 $\beta$  dalam jumlah berlebihan dapat menyebabkan terjadinya syok septik (Kresno, 2010).

Bakteri *Streptococcus agalactiae* juga dapat menyebabkan kerusakan pada organ dengan cara mengkolonisasi organ tersebut seperti ginjal. Bakteri *Streptococcus agalactiae* ini masuk ke dalam organ ginjal secara sistemik melalui pembuluh darah. Hal ini ditunjukkan dalam penelitian Rosati *et al.* (1998)

bahwa bakteri *Streptococcus agalactiae* mampu mengkolonisasi organ ginjal dalam waktu 24 jam dan 48 jam setelah pemberian *Streptococcus agalactiae* secara intraperitoneal.

Pengobatan infeksi yang disebabkan oleh bakteri *Streptococcus agalactiae* dilakukan dengan pemberian antibiotik (Woods, 2015). Namun, *Streptococcus agalactiae* diketahui resisten terhadap beberapa jenis antibiotik, sehingga pengobatan menjadi tidak efektif dan masa pengobatannya menjadi lebih panjang. Penelitian Virgihani (2011) dari hasil uji antibiogram pada sapi perah dengan mastitis subklinis menemukan bahwa *Streptococcus agalactiae* telah mengalami resistensi terhadap antibiotik Penisilin, Ampisilin, Tetrasiklin, Eritromisin, Gentamisin, Kanamisin, Siprofloksasin dan Enrofloksasin. Oleh karena itu, diperlukan alternatif lain untuk mencegah infeksi nifas terutama dengan memanfaatkan tanaman yang berasal dari bahan alam yang dapat berfungsi sebagai antimikroba. Salah satu tanaman yang mungkin dapat digunakan adalah tanaman turi.

Tanaman turi dengan nama ilmiah *Sesbania grandiflora* merupakan tanaman yang dapat tumbuh dengan baik di tanah yang tidak subur. Tanaman ini sering tumbuh liar di kebun, ladang maupun perkarangan rumah. Selama ini masyarakat memanfaatkan tanaman ini sebagai bahan makanan yaitu bagian daun, biji, kacang polong, dan bunga. Selain itu, tanaman turi ini juga dimanfaatkan sebagai pakan ternak (Yusuf, 2012). Berdasarkan warna bunga, tanaman turi dapat dibedakan menjadi dua yaitu putih dan merah. Turi berbunga merah lebih sering dimanfaatkan dalam pengobatan dibandingkan turi berbunga putih. Hal ini disebabkan oleh kandungan kimia seperti flavonoid, saponin, tanin, karbohidrat, phytosterol, triterpenes, terpenoid pada turi merah lebih banyak daripada turi putih (Nasution dkk., 2010; Joshi *et al.*, 2014).



Daun turi merah telah banyak dimanfaatkan oleh masyarakat luas karena memiliki manfaat klinis untuk mengobati keputihan, batuk, sakit kepala, radang tenggorokan, demam nifas, produksi asi, hidung berlendir, batuk, rematik, luka dan lainnya (Nasution dkk., 2010). Dalam penelitian ini menggunakan bagian daun, karena kandungan zat aktif pada bagian daun turi merah paling lengkap dibandingkan bagian turi merah lainnya (Nasution dkk., 2010).

Penelitian Naqi Taha (2014) membuktikan bahwa ekstrak etanol dari *Sesbania grandiflora* memiliki efek sebagai antibakteri terhadap bakteri Gram positif di antaranya *Streptococcus*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* dan bakteri Gram negatif seperti *Salmonella typhi*, *Proteus vulgaris*, dan *Pseudomonas aeruginosa*. Selain itu Yusniawati (2015) membuktikan bahwa kandungan saponin, flavonoid dan tanin dalam daun turi merah juga memiliki efek antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*. Dengan demikian, diduga daun turi merah juga mempunyai efek antibakteri terhadap *Streptococcus agalactiae* yang dapat berpengaruh terhadap sekresi sitokin proinflamasi sebagai akibat aktivasi sistem imun yang relatif berkurang dibandingkan dengan aktivasi sistem imun apabila tidak ada susbtansi antimikroba.

Berdasarkan uraian tersebut di atas dengan melihat manfaat klinis daun turi merah pada beberapa penyakit serta belum adanya penelitian tentang ekstrak daun turi merah terhadap penurunan kadar TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  dan jumlah koloni bakteri pada ginjal *Mus musculus* nifas yang diinfeksi *Streptococcus agalactiae*, maka dilakukan penelitian dengan judul “Pengaruh ekstrak daun turi merah (*Sesbania grandiflora* L. Pers) terhadap penurunan kadar TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  dan jumlah koloni bakteri pada ginjal *Mus musculus* nifas yang diinfeksi *Streptococcus agalactiae*”.

## 1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah : Apakah pemberian ekstrak daun turi merah (*Sesbania grandiflora L.Pers*) menurunkan kadar TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  dan jumlah koloni bakteri pada ginjal *Mus musculus* nifas yang diinfeksi *Streptococcus agalactiae*?

## 1.3 Tujuan Penelitian

### 1.3.1 Tujuan Umum

Menganalisis pengaruh pemberian ekstrak daun turi merah (*Sesbania grandiflora L.Pers*) terhadap penurunan kadar TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  dan jumlah koloni bakteri pada ginjal *Mus musculus* nifas yang diinfeksi *Streptococcus agalactiae*.

### 1.3.2 Tujuan Khusus

1. Menganalisis pengaruh pemberian ekstrak daun turi merah (*Sesbania grandiflora L.Pers*) dosis 125 mg/kgBB, 250 mg/kgBB, dan 500 mg/kgBB terhadap penurunan kadar TNF- $\alpha$  *Mus musculus* nifas yang diinfeksi *Streptococcus agalactiae*
2. Menganalisis pengaruh pemberian ekstrak daun turi merah (*Sesbania grandiflora L.Pers*) dosis 125 mg/kgBB, 250 mg/kgBB, dan 500 mg/kgBB terhadap penurunan kadar IL-1 $\beta$  *Mus musculus* nifas yang diinfeksi *Streptococcus agalactiae*
3. Menganalisis pengaruh pemberian ekstrak daun turi merah (*Sesbania grandiflora L.Pers*) dosis 125 mg/kgBB, 250 mg/kgBB, dan 500 mg/kgBB menurunkan jumlah koloni bakteri pada ginjal *Mus musculus* nifas yang diinfeksi *Streptococcus agalactiae*

## **1.4 Manfaat Penelitian**

### **1.4.1 Manfaat Akademis/Teoritis**

Hasil penelitian dapat dijadikan sebagai masukan yang menambah khasanah pengetahuan tentang manfaat tanaman turi dan dapat digunakan sebagai dasar bagi penelitian selanjutnya tentang manfaat daun turi sebagai antibiotik

### **1.4.2 Manfaat Praktis**

1. Dapat digunakan sebagai dasar untuk terapi infeksi nifas yang disebabkan oleh bakteri *Streptococcus agalactiae* dengan pemberian ekstrak daun turi merah (*Sesbania grandiflora* L.Pers) melalui efek penurunan jumlah koloni bakteri *Streptococcus agalactiae* pada ginjal dan sitokin proinflamasi (kadar TNF- $\alpha$  dan IL-1 $\beta$ ).
2. Dapat memberikan pencerahan kepada masyarakat tentang pemberian ekstrak daun turi merah (*Sesbania grandiflora* L.Pers) sebagai pengganti antibiotik untuk terapi infeksi nifas yang disebabkan oleh bakteri *Streptococcus agalactiae*.
3. Hasil penelitian ini dapat dijadikan sebagai inovasi baru dengan memanfaatkan bahan alami daun turi merah sebagai antimikroba guna pencegahan dan pengobatan nonmedikamentosa pada wanita terhadap infeksi yang disebabkan oleh bakteri *Streptococcus agalactiae*.
4. Memberikan prospek yang lebih baik terhadap pengembangan budidaya tanaman sebagai tanaman obat tradisional Indonesia

## BAB 2

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Infeksi Nifas

Masa nifas (*puerperium*) adalah masa setelah keluarnya plasenta sampai alat-alat reproduksi pulih seperti sebelum hamil. Secara normal masa nifas berlangsung selama 6 minggu atau 40 hari (Ambarwati, 2010). *Postpartum* atau masa nifas atau *puerperium* dimulai sejak 1 jam setelah lahirnya plasenta sampai dengan 6 minggu (42 hari) setelah persalinan (Prawirohadjo, 2009). Menurut Cunningham (2006), nifas adalah periode setelah kelahiran mencakup 6 minggu berikutnya saat terjadi involusi uterus. Dari ketiga pengertian di atas dapat disimpulkan bahwa nifas adalah waktu setelah melahirkan sampai 6 minggu sehingga fungsi organ reproduksi kembali normal.

Periode nifas ditandai sebagai waktu pemulihan keseimbangan imunologis akibat perubahan yang terjadi selama kehamilan, yaitu waktu pemulihan keseimbangan dari Th1 atau Th2 (Weissenbacher *et al.*, 2013). Limfosit T helper (Th-1) mensekresi IL-2 dan IFN- $\gamma$  yang menginduksi respon *cell mediated immune*, sedangkan sel limfosit T helper-2 (Th-2) mensekresikan IL-4, IL-10, IL-5 yang menginduksi imunitas humoral. Keseimbangan dari Th-1 dan Th-2 dan produksi sitokin menentukan efektifitas eliminasi patogen penyebab penyakit pada masa nifas (Patra, 2013).

Beberapa masalah kesehatan yang muncul pada masa nifas diantaranya adalah perdarahan pascapartum, infeksi nifas (*puerperium*), preeklampsia/eklampsia, tromboemboli, infeksi mammae dan komplikasi perkemihan (Manuaba, 2009). Infeksi pada masa nifas biasanya disebabkan karena masuknya bakteri melalui jalan lahir atau alat genetalia pada saat persalinan maupun setelah persalinan. Selain itu trauma berkelanjutan selama

proses persalinan atau prosedur *sectio caesarea* dan perubahan fisiologis selama kehamilan juga berkontribusi terhadap perkembangan infeksi nifas. Infeksi pada masa nifas ditandai dengan gejala peningkatan dari suhu tubuh lebih dari 38<sup>0</sup>C dalam 2 hari berturut-turut pada 10 hari pertama postpartum, *lochea* berbau dan nyeri pada tempat infeksi (Lowdermilk, 2010; Wong *et al.*, 2015)

Kecenderungan terjadinya Infeksi nifas bergantung pada mekanisme pertahanan rahim *host*. Perubahan yang terjadi pada konsentrasi hormon steroid termasuk estrogen, progesteron, glukokortikoid dan metabolisme *arachidonic acid* saat mendekati persalinan berperan penting dalam menekan fungsi leukosit, sehingga hal ini menyebabkan pada masa nifas rentan terhadap terjadinya infeksi (Weissenbacher *et al.*, 2013). Selain itu, pada awal masa nifas, jumlah dan fungsi limfosit seperti proliferasi sel, produksi antibodi dan sitokin menurun. Penurunan dari pertahanan sistem imun *host* ini berkontribusi pada patogenesis terjadinya infeksi. Terjadinya penurunan dari produksi sitokin pada masa nifas ini menyebabkan perubahan pada respon imun tertentu dan meningkatkan kerentanan *host* terhadap infeksi (Patra, 2013).

## **2.2 Bakteri Penyebab Infeksi Nifas**

Penyebab infeksi nifas paling sering disebabkan oleh masuknya organisme seperti bakteri *Chlamydia*, *Clostridium tetani*, *Clostridium welchii*, *Escherichia coli* (*E. Coli*), *Gonococci*, *Staphylococci*, *Streptococci* melalui luka episiotomi (Wong *et al.*, 2015).

Penelitian Nahid (2009) menyatakan bahwa sekitar 6077 pasien postpartum baik yang melahirkan secara pervaginam dan *secsio caesarea* di Rumah Sakit Khanevadah dari tahun 2003 sampai dengan 2008 sebanyak 461 pasien diantaranya mengalami infeksi postpartum. Adapun bakteri yang berhasil

diisolasi antara lain *Streptococcus pyogenes* sejumlah 31 (6,7%), *Streptococcus agalactiae* sejumlah 34 (7,3%), *Enterococcus* sejumlah 54 (11,8%), *Peptostreptococcus spp* sejumlah 57 (12,4), *Peptococcus spp* sejumlah 49 (10,7%), *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis* sejumlah 36 (7,9%), *Staphylococcus saprophyticus* sejumlah 27 (5,8%), *Bacteroids spp* sejumlah 50 (10,9%), *E.coli* dan *enterobacteriaceae* lainnya sejumlah 43 (9,3%), *Clostridium* sejumlah 10 (2,1%), *Gardnerella vaginalis* sejumlah 31 (6,8%), *N.gonorrheae* sejumlah 4 (0,8%), *Chlamydia trachomatis* sejumlah 11 (2,3%), *Mycoplasma hominis* dan *Ureaplasma* sejumlah 15 (3,2%) yang semuanya merupakan flora normal di vagina. Salah satu bakteri anaerob yang ditemukan adalah *Streptococcus agalactiae*.

Hasil penelitian Lancefield dan Hare (2000) menunjukkan bahwa dari 65 pasien postpartum dengan gejala klinis demam di Rumah Sakit Bersalin Queen Charlotte London dilakukan isolasi bakteri *Hemolytic Streptococcal* dengan menggunakan swab vagina pada hari ke-3 atau ke-4 setelah persalinan. Adapun jenis bakteri yang berhasil diisolasi terdiri dari bakteri Streptokokus grup A, B, C, D, F, G dan diketahui bakteri Streptokokus grup B dan Streptokokus grup D merupakan bakteri yang paling banyak ditemukan pada pasien dengan infeksi nifas.

Berdasarkan penelitian Dechen *et al.*, (2010) didapatkan sekitar 25 ibu hamil (4.77%) dari 524 ibu hamil dengan kehamilan aterm ataupun preterm positif terinfeksi *Streptococcus agalactiae* berdasarkan hasil swab vagina. Selain itu bakteri lain yang berhasil diisolasi adalah 189 (36%) *Candida albican*, 42 (8%) *Staphylococcus aureus* dan 42 (8%) *Enterococcus*. Diketahui infeksi *Streptococcus agalactiae* pada ibu hamil secara signifikan berhubungan dengan usia kehamilan, PROM dan persalinan prematur. Ibu hamil yang terdapat kolonisasi *Streptococcus agalactiae* menyebabkan bakteriuria asimtomatik atau



Infeksi Saluran Kemih (ISK) yang berkembang menyebabkan terjadinya infeksi nifas seperti amnionitis, endometritis dan sepsis.

Bakteri Streptokokus grup B atau dikenal dengan bakteri *Streptococcus agalactiae* merupakan bakteri gram positif yang berbentuk bulat (*coccus*) berantai atau berpasangan dan sering berkolonisasi pada saluran genitalia wanita dan gastrointestinal, sehingga hal ini sering menjadi penyebab utama infeksi baik pada kehamilan (seperti infeksi saluran kemih dan vaginitis), persalinan (seperti *Intra-amniontic infection*), nifas (seperti mastitis, bakteremia, sepsis, meningitis dan endometritis) dan pada neonatus. Pada orang dewasa sehat bakteri ini berkolonisasi secara asimtomatis, namun organisme ini juga mampu menyebabkan penyakit dan kerusakan jaringan. *Streptococcus agalactiae* pada gastrointestinal dapat menyebar ketika seseorang tidak mencuci tangan dengan baik setelah menggunakan kamar mandi. Namun, bakteri ini tidak dapat menular melalui batuk ataupun bersin (Rajagopal, 2009; Nettleman, 2015).

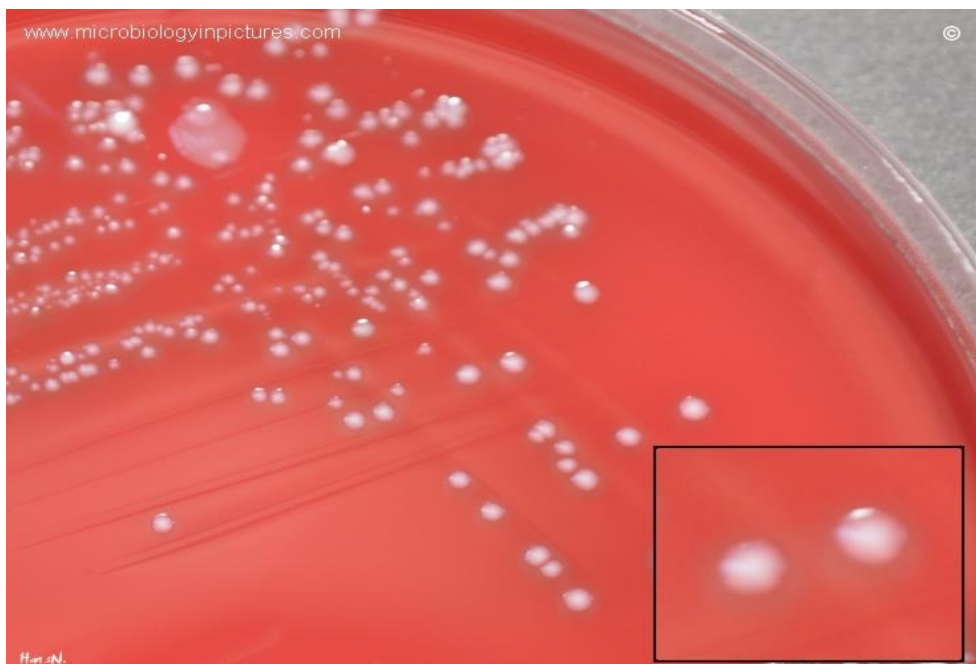
## **2.3 *Streptococcus agalactiae***

### **2.3.1 Definisi *Streptococcus agalactiae***

Bakteri *Streptococcus agalactiae* atau dikenal juga dengan Streptokokus grup B merupakan salah satu dari banyak spesies yang berbeda dalam genus *Streptococcus*. *Streptococcus agalactiae* berbentuk kecil (1-2 mm), bulat (*coccus*), berantai atau berpasangan. Bakteri ini termasuk ke dalam kelompok bakteri gram positif yang bersifat anaerob fakultatif, dan tidak membentuk spora. Koloni pembenihan pada bakteri ini berwarna abu-putih sampai kuning yang memiliki daerah beta hemolisis yang sempit pada agar darah dan menunjukkan hasil negative untuk tes katalase. Spesies *Streptococcus* pada manusia termasuk Streptokokus grup A (*Streptococcus pyogenes*), Streptokokus grup B

(*Streptococcus agalactiae*), Streptokokus grup D (*enterococci*), *Streptococcus pneumoniae*, dan *Streptococcus Varidans* (Madoff, 2014; Eschenbach, 2016).

Bakteri *Streptococcus agalactiae* termasuk ke dalam kelompok bakteri gram positif yang memiliki dinding sel yang terdiri dari *lipoteichoic acid* (LTA) dan *peptidoglycan* (PepG). *Lipoteichoic acid* (LTA) terdiri dari polymer fosfat yang merupakan antigen permukaan yang dapat berinteraksi dengan sel *host* (Clarke, 2012). Dikarenakan bakteri ini termasuk kedalam kelompok bakteri gram positif anaerob fakultatif, maka beberapa spesies *Streptococcus* membutuhkan CO<sub>2</sub> untuk berkembang. Semua spesies *Streptococcus* tidak dapat mereduksi nitrat. *Streptococcus* memfermentasi glukosa dengan produk utama adalah asam laktat, tidak pernah berupa gas (Poeloengan, 2013). Secara mikroskopis bentuk dari *Streptococcus agalactiae* dapat dilihat pada gambar berikut :



**Gambar 2.1 *Streptococcus Agalactiae***

Koloni bakteri  $\beta$ -hemolytic *Streptococcus agalactiae* pada agar darah selama 18 jam dengan suhu 36°C (Newman, 2015)

Kebanyakan bakteri *Streptococcus agalactiae* dapat tumbuh dalam media padat sebagai koloni discoid, biasanya berukuran 1-2 mm. Media yang dapat digunakan untuk menumbuhkan *Streptococcus agalactiae*, yaitu sebagai berikut :

1. *Blood Agar Plate* (BAP)

Koloni *Streptococcus agalactiae* yang tumbuh pada media ini berukuran kecil-kecil, bulat halus, berdiameter kurang dari 1 mm, pinggiran rata dan disekeliling koloni tampak zona yaitu bening : hemolisis total (*Beta Streptococcus*), jernih kehijauan : homedigesti (*Alpha Streptococcus*), dan tidak berubah sama sekali : *Gamma Streptococcus* (Eschenbach, 2016)

2. *Manitol Salt Agar* (MSA)

Koloni *Streptococcus agalactiae* pada media *Manitol Salt Agar* (MSA) berukuran kecil, smooth, bulat dan cembung-cembung. Warna koloni putih kekuningan yang artinya bakteri mampu memfermentasi bahan dalam media (Zamzam, 2014)

### 2.3.2 Klasifikasi

Klasifikasi *Streptococcus agalactiae* menurut Lehmann and Neumann (1896) dalam Wikipedia yaitu sebagai berikut :

Kingdom	: Bacteria
Phylum	: Firmicutes
Class	: Coccus
Ordo	: Lactobacillales
Family	: Streptococcaceae
Genus	: Streptococcus
Spesies	: <i>Streptococcus agalactiae</i>

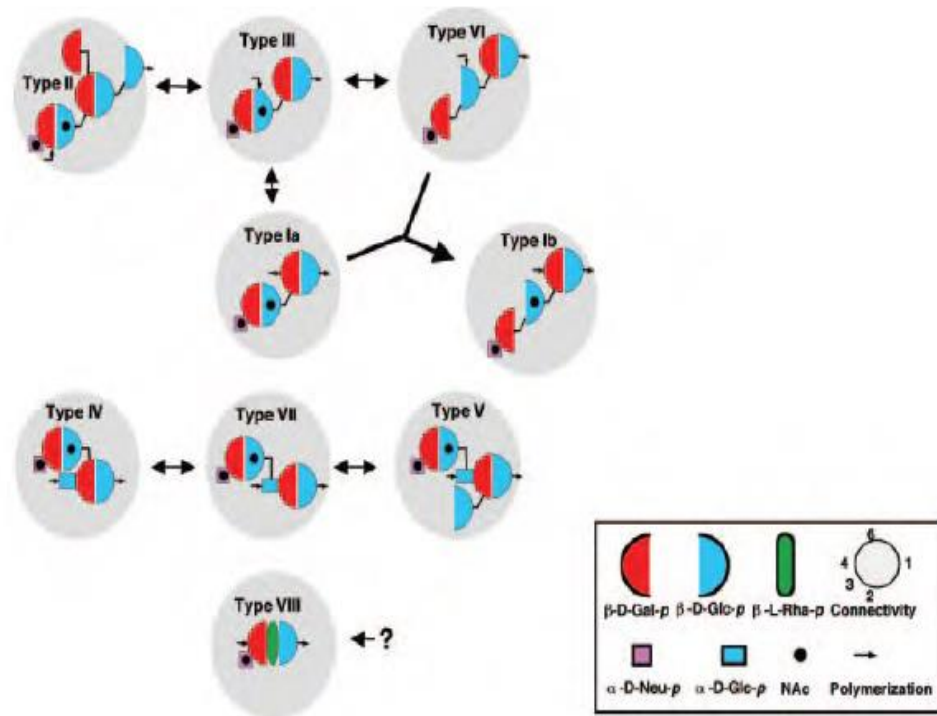
### 2.3.3 Patogenisitas *Streptococcus agalactiae*

Bakteri *Streptococcus agalactiae* termasuk bakteri ekstraseluler sehingga bakteri ini mampu bereplikasi diluar sel inang, misalnya darah, jaringan ikat dan pada jaringan konektif seperti lumen dari saluran pernafasan dan saluran pencernaan. Bakteri *Streptococcus agalactiae* diketahui merupakan flora normal pada saluran genetalia wanita dan saluran pencernaan, namun bakteri ini juga bersifat patogen dan menyebabkan penyakit, dimana bakteri ini mampu menginduksi peradangan, yang dapat merusak jaringan tempat infeksi dan menghasilkan toksin yang memiliki efek patologis yang beragam (Abbas dan Lichtman, 2015).

Bakteri *Streptococcus agalactiae* atau dikenal dengan Streptokokus grup B memiliki kemampuan untuk menghancurkan sel darah merah pada agar darah domba dan menghasilkan koloni yang secara karakteristik merupakan  $\beta$  hemolitik. *Streptococcus agalactiae* dapat ditemukan pada saluran genetalia dan gastrointestinal sekitar 30% pada wanita dan 20% pada laki-laki tanpa menyebabkan penyakit. Bakteri *Streptococcus agalactiae* secara cepat dapat menyesuaikan diri dengan perubahan lingkungan yang ada seperti perubahan pH, osmolaritas, suhu, dan konsentrasi bahan kimia dari asimptomatik menjadi invasif infeksi (Clarke, 2012)

*Streptococcus agalactiae* diketahui menghasilkan banyak zat ekstraseluler yang beberapa diantaranya memiliki peran penting dalam virulensi atau antigen pelindung berupa *Capsular Polysaccharides* yang memberikan sifat serotipe spesifik untuk *Streptococcus agalactiae*. Saat ini terdapat 9 serotipe kapsuler yaitu Ia, Ib, II, III, IV, V, VI, VII, VIII yang diatur berdasarkan susunan monosakarida. Akhir-akhir ini diketahui bahwa strain *Streptococcus agalactiae* dari serotipe III berkaitan dengan penyakit meninggitis pada neonatal setelah minggu pertama kehidupannya. Selain itu, isolasi *Streptococcus agalactiae*

dengan serotipe tipe Ia, III, dan V terdapat pada orang dewasa yang tidak hamil dan orang tua yang terinfeksi *Streptococcus agalactiae* (Muller *et al.*, 2006; Madoff, 2014).



**Gambar 2.2 Struktur Serotipe**

Struktur serotipe kapsuler dari bakteri *Streptococcus agalactiae* yaitu Ia, Ib, II, III, IV, V, VI, VII, VIII yang diatur berdasarkan susunan monosakarida yang digambarkan dengan bentuk sederhana, *acetylation* dari gula digambarkan dengan titik hitam dan hubungan *glycosidic* antar monosakarida digambarkan dengan bulatan (Cieslewicz *et al.*, 2005, dalam Clarke, 2012).

#### 2.3.4 Faktor Virulensi *Streptococcus agalactiae*

Bakteri *Streptococcus agalactiae* memiliki beberapa jenis faktor virulensi yang dapat menyebabkan berbagai penyakit pada tubuh manusia. Bakteri *Streptococcus agalactiae* dapat menimbulkan penyakit karena dapat tersebar luas dalam jaringan dan pembentukan berbagai zat ekstraseluler. Berbagai zat yang berperan sebagai faktor virulensi dapat berupa protein, termasuk enzim dan toksin seperti : katalase, koagulase, hemolisin, leukosidin, toksin eksfoliatif, *Toxin*

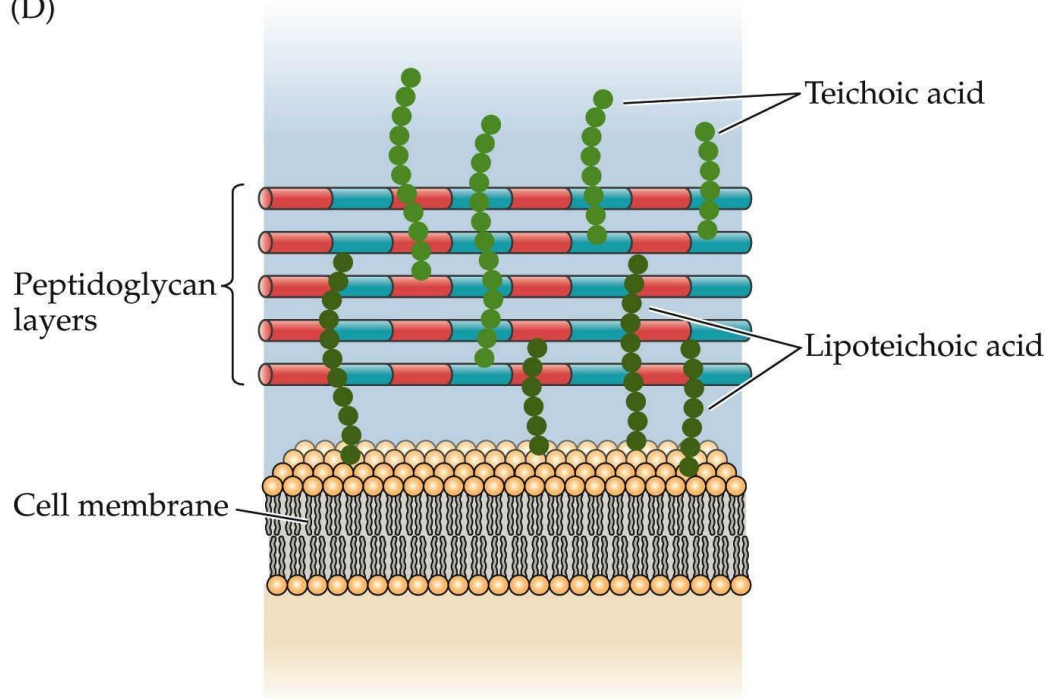
*Shock Syndrome Toxin* (TSST) dan enterotoksin (Kusuma, 2009). Eksotoksin yang disekresikan oleh bakteri gram positif bersifat sitotoksik dan membunuh sel dengan berbagai mekanisme biokimiawi. Eksotoksin dapat mengganggu fungsi normal tanpa membunuh sel dan dapat merangsang produksi sitokin yang dapat menimbulkan penyakit, merusak fagosit, jaringan setempat, susunan saraf pusat dan dapat menyebabkan kematian (Baratawidjaja, 2014). Bakteri *Streptococcus agalactiae* menghasilkan protein invasif yang merupakan protein permukaan yang membantu kolonisasi pada jaringan inang atau *host*, seperti leukosidin, kinase, dan hyaluronidase untuk dapat mendukung penyebarannya dalam jaringan. Leukosidin adalah sitotoksin yang dapat membunuh leukosit, sedangkan hyaluronidase adalah enzim yang dapat mendegradasi asam hyaluronat sehingga meningkatkan permeabilitas jaringan (Todar, 2008). Bakteri *Streptococcus agalactiae* memproduksi enzim koagulasi yang mampu merubah fibrinogen menjadi fibrin, kemudian akan menggumpalkan darah (Shodikin, 2006).

Virulensi dari bakteri ekstraseluler memiliki sejumlah mekanisme untuk menghindari dari sistem imun bawaan. Bakteri *Streptococcus* memiliki komponen dinding sel berupa peptidoglikan, *teichoic acid* dan *lipoteichoic acid*. Peptidoglikan dan *lipoteichoic acid* dapat berfungsi sebagai titik pengenalan terhadap aktivasi sistem imun (Sverrisdottir, 2012). Selain itu *Streptococcus agalactiae* juga memiliki dinding luar berupa kapsul polisakarida yang berfungsi sebagai kapsul pelindung sehingga mampu bertahan terhadap fagositosis. Selain itu diketahui bakteri yang berkapsul jauh lebih ganas dibandingkan dengan bakteri yang tidak memiliki kapsul. Kebanyakan kapsul dari bakteri gram positif mengandung *sialic acid* yang dapat menghambat aktivasi komplemen pada jalur alternatif. Selain itu perubahan produksi glikosidase menyebabkan perubahan kimia pada permukaan LPS dan polisakarida lainnya, hal ini memungkinkan



bakteri untuk menghindar dari respon imun humoral (Abbas dan Litchman., 2015).

(D)



**Gambar 2.3 Struktur dinding sel bakteri gram positif**

Komponen dinding sel bakteri gram positif yang dapat berupa peptidoglycan, *teichoic acid*, dan *lipoteichoic acid* (Todar, 2008)

### 2.3.5 Respon Imun Pada Bakteri *Streptococcus agalactiae*

*Streptococcus agalactiae* (Streptokokus grup B) dapat berkolonisasi tanpa menyebabkan bahaya dalam tubuh manusia selama kolonisasi organisme pada permukaan dan membran. Namun, *Streptococcus agalactiae* dapat menyebabkan infeksi ketika bakteri dapat masuk ke aliran darah, jaringan atau organ (Nettleman, 2015).

Ketika terjadi infeksi, respon imun berusaha untuk melawan patogen melalui sistem pertahanan nonspesifik (bawaan) dan spesifik, yaitu :

## 1. Sistem imun nonspesifik

Tubuh diketahui juga memiliki imunitas bawaan (*innate immunity*) yang merupakan garis pertahanan pertama dari sistem imun setelah mampu melewati kulit dan mukosa. Di dalam sistem imun bawaan aktivasi fagosit (neutrofil dan makrofag) serta komplemen memegang peranan yang sangat penting. Aktivasi fagosit (neutrofil dan makrofag) menggunakan reseptor permukaan yaitu reseptor mannose, reseptor Fc dan aktivasi *Toll-like receptors* (TLRs) berfungsi untuk mengenali bakteri ekstraseluler dan meningkatkan fagositosis terhadap mikroba. Selain itu, bakteri Gram positif yang mengandung *peptidoglycan* pada dinding selnya dan *Lipopolysacharida* (LPS) dapat memicu aktivasi komplemen pada jalur alternatif. Selain itu bakteri ini juga mengekspresikan ikatan *mannose-binding lectin* yang dapat mengaktifkan jalur lectin komplemen. Salah satu fungsi dari aktivasi komplemen pada respon imun adalah opsonisasi yang meningkatkan fagositosis (Abbas & Lichtman., 2015)

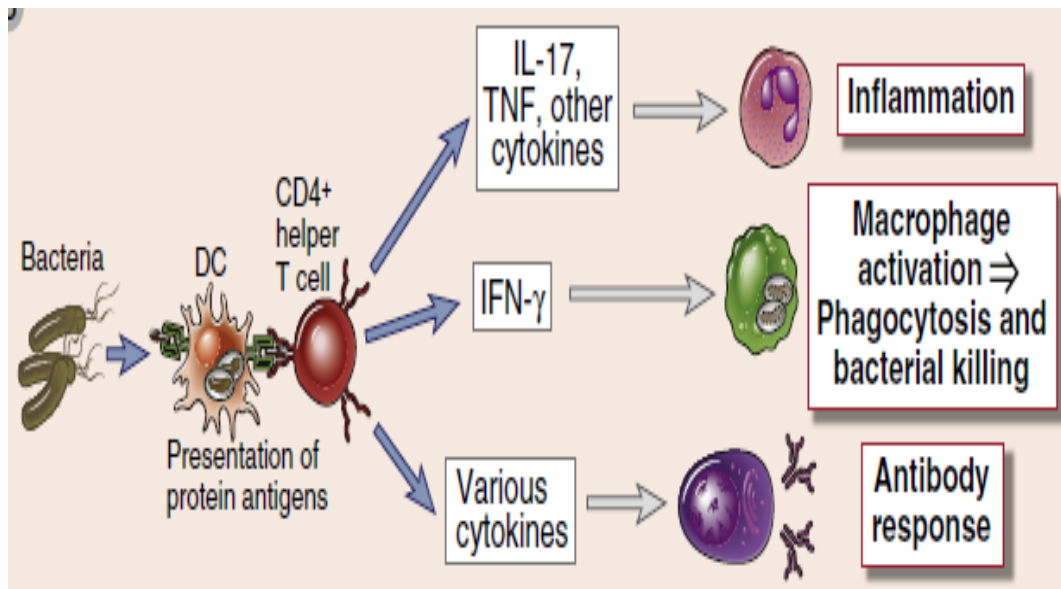
Proses fagositosis oleh fagosit (Neutrofil dan makrofag) berlangsung dalam 5 fase secara berurutan yaitu : fase pergerakan, perlekatan, penelanan (*ingestion*), degranulasi, dan pembunuhan (*killing*). Proses penelanan bakteri terjadi karena fagosit membentuk tonjolan pseudopodia, kemudian membentuk kantung yang mengelilingi bakteri dan mengurungnya, sehingga bakteri tertangkap dalam kantung (vakuola) yang disebut fagosom. Fagosom terdiri atas dinding bagian luar fagosit. Selanjutnya fagosom dan berbagai jenis enzim dan protein lain dari granula intraseluler bergabung (fusi) sehingga menyebabkan terjadinya degranulasi dan *respiratory burst* di dalam fagolisosom. Enzim dan protein yang terdapat dalam granula mampu membunuh kuman, baik dengan proses oksidatif maupun non-oksidatif (Mayer, 2016).

Proses oksidatif dapat berlangsung dengan mieloperoksidase ataupun tidak. Sedangkan proses non-oksidatif berlangsung dengan bantuan protein

sitolitik misalnya flavoprotein, sitokrom-b, laktoferin, lisozim, katepsin G, difensin, dan sebagainya. Pada saat proses pembunuhan mikroorganisme, pH dalam fagosom meningkat menjadi alkalis untuk kemudian menurun lagi menjadi asam. Mekanisme pembunuhan non-oksidatif ini dapat terjadi karena protein neutrofil bermuatan positif, sedangkan makrofag dalam suasana pH alkalis bersifat toksik yang dapat merusak lapisan lemak dinding bakteri (Abbas & Lichtman., 2015; Mayer, 2016).

## **2. Sistem imun spesifik**

Sel-sel dalam sistem imun spesifik pada reaksi terhadap mikroba adalah limfosit B yang mampu memproduksi antibodi, limfosit T yang mengatur sintesis antibodi serta sel T yang mempunyai fungsi efektor sebagai sel T helper (Th1 dan Th2) dan sel T sitotoksik. Sel T untuk menghasilkan respon antibodi, maka sel T helper dan sel B harus berinteraksi satu dengan yang lain. Hal ini diawali dengan tertangkapnya mikroba oleh makrofag yang berfungsi sebagai *Antigen presenting cells* (APC) dan selanjutnya peptida antigen akan diproses dan dipresentasikan melalui ikatan MHC-II kepada sel T helper CD4+, dimana sel T helper CD4+ akan memproduksi sitokin yang dapat menginduksi inflamasi lokal, meningkatkan fagositosis dan aktivitas mikrobisida dari makrofag dan neutrofil, dan menstimulasi produksi antibodi oleh sel B (Abbas & Litchman., 2015). Mekanismenya dapat terlihat pada gambar di bawah ini:



**Gambar 2.4 Respon imun adaptif terhadap mikroba ekstraseluler**

Respon imun adaptif untuk mikroba ekstraseluler seperti bakteri dan toksin dari bakteri yang terdiri dari aktivasi sel T helper CD4+. Sel T helper menghasilkan sitokin yang menstimulasi inflamasi, aktivasi makrofag dan respon sel B (Abbas dan Lichtman, 2015)

Aktivasi sel B dapat terjadi melalui dua cara yaitu melalui T dependen dan T independen. Aktivasi sel B melalui sel T dependen tergantung dari sitokin sel T (IL-4, IL-5, IL-10 dan IL-13) dalam aktivasinya. Sitokin-sitokin yang diproduksi oleh sel Th2 akan meningkatkan proliferasi sel B dan akan berdiferensiasi menjadi sel plasma yang akan memproduksi antibodi. Sedangkan untuk aktivasi sel B melalui sel T independen berarti dalam hal ini sel B tidak membutuhkan sel T dalam mengaktifkannya untuk berdiferensiasi menjadi sel plasma. Mekanisme efektor yang digunakan oleh antibodi untuk memerangi infeksi antara lain netralisasi, opsonisasi dan fagositosis dan aktivasi komplemen pada jalur klasik. Netralisasi oleh antibodi di mediasi oleh peningkatan Immunoglobulin A (IgA) dalam lumen organ mukosa, sedangkan opsonisasi dimediasi oleh subkelas IgA dan aktivasi komplemen dimediasi oleh IgM dan IgG. Immunoglobulin A (IgA) merupakan salah satu bahan yang dibentuk oleh sel plasma yang banyak ditemukan dalam cairan sekresi saluran nafas, cerna dan kemih, air mata,

keringat, ludah, dan air susu ibu berupa IgA sekretori (sIgA) (Baratawidjaja dan Rengganis, 2014; Abbas & Lichtman., 2015).

## **2.4 Inflamasi**

Inflamasi adalah respon yang terjadi secara normal terhadap berbagai rangsangan seperti infeksi dan cedera jaringan. Inflamasi bisa terjadi secara lokal, sistemik, akut dan kronis yang dapat menimbulkan kelainan patologis (Baratawidjaja, 2013). Inflamasi juga didefinisikan sebagai reaksi pertahanan tubuh yang diawali oleh infeksi atau kerusakan jaringan karena trauma fisik atau kimia. Peradangan ditandai oleh gejala rubor, calor, tumor, dolor dan *function laesa* (Subowo, 2013).

Salah satu respon dari sistem imun bawaan terhadap infeksi dan kerusakan jaringan adalah sekresi sitokin oleh sel-sel jaringan untuk menginduksi terjadinya respon inflamasi akut. Sitokin-sitokin yang disekresikan oleh sistem imun bawaan yaitu TNF, IL-1 dan IL-6 dan yang berperan dalam inflamasi akut (terutama TNF dan IL-1) (Abbas dan Litchman., 2015).

## **2.5 Tumor Necrosis Factor (TNF- $\alpha$ )**

### **2.5.1 Definisi Tumor Necrosis Factor (TNF- $\alpha$ )**

*Tumor Necrosis Factor- $\alpha$*  (TNF- $\alpha$ ) adalah peptida 17.3 kDa, merupakan superfamili TNF yang bertindak sebagai mediator dari respon inflamasi akut terhadap bakteri dan infeksi mikroba lainnya. Nama sitokin ini berasal dari identifikasi aslinya sebagai substansi serum (faktor) yang menyebabkan nekrosis dari tumor, yang sekarang dikenal sebagai penyebab dari inflamasi dan trombotik pembuluh darah tumor. Sumber utama TNF adalah fagosit mononuklear dan sel T yang diaktifkan oleh antigen, serta sel NK dan sel mast. Di dalam makrofag, TNF disintesis sebagai *nonglycosylated type II* membran

protein dan diekspresikan sebagai homotrimer yang mampu mengikat satu reseptor TNF (Baratawidjaja, 2013; Abbas & Lichtman., 2015)

Menurut Baratawidjaja (2013) TNF- $\alpha$  mempunyai kemampuan inisiasi kaskade (rangkaian) terhadap sitokin dan faktor lain yang berhubungan dengan respon inflamasi. TNF memiliki efek biologik antara lain mampu mengarahkan neutrofil dan monosit ke tempat infeksi serta mengaktifkan sel-sel tersebut untuk menyingkirkan mikroba, mampu memacu ekspresi molekul adhesi sel endotel vaskular terhadap leukosit, mampu merangsang makrofag mensekresi kemokin dan menginduksi kemotaksis dan pengerahan leukosit, serta mampu merangsang fagosit mononuklear untuk mensekresi IL-1 dengan efek seperti TNF.

*Tumor Necrosis Factor- $\alpha$*  (TNF- $\alpha$ ) merupakan sitokin utama pada respon inflamasi akut terhadap bakteri dan mikroba lainnya. TNF- $\alpha$  berperan pada sel endotel vaskular untuk merangsang pembentukan *platelet activating factor*, yang dapat meningkatkan pembekuan darah yang berguna untuk menghambat aliran pada pembuluh darah lokal sehingga dapat membatasi patogen memasuki darah. Pelepasan TNF- $\alpha$  yang berlebihan oleh makrofag ke dalam aliran darah dapat menyebabkan kondisi yang berbahaya yang dikenal sebagai sepsis. Selain itu juga dapat terjadi pelebaran pembuluh darah lokal, vasodilatasi sistemik yang dapat menyebabkan kebocoran cairan ke dalam jaringan dan terjadinya pembekuan darah secara luas. Bila hal ini terjadi maka dapat menimbulkan syok septik dan dapat menyebabkan kegagalan organ dan kematian. TNF- $\alpha$  pada kadar yang rendah dapat bekerja terhadap leukosit dan endotel yang mampu menginduksi inflamasi akut. Pada kadar yang sedang, TNF mampu berperan dalam inflamasi sistemik. Namun, pada kadar yang tinggi, TNF mampu menimbulkan kelainan patologik syok septik (Cruse and Lewis., 2004; Baratawidjaja, 2013).

*Tumor Necrosis Factor* (TNF) memiliki efek biologik sebagai berikut yaitu dapat mengarahkan neutrofil dan monosit ke tempat infeksi serta mengaktifkan sel-sel tersebut untuk menyingkirkan mikroba, merangsang makrofag mensekresi kemokin dan penginduksi kemotaksis dan penggerakan leukosit, merangsang fagosit mononuklear untuk mensekresi IL-1 dengan efek seperti TNF, menginduksi apoptosis sel pada lokus inflamasi, dan merangsang hipotalamus yang menginduksi panas yang dikenal dengan sebutan pirogen endogen. Panas ditimbulkan atas pengaruh prostaglandin yang diproduksi hipotalamus yang dirangsang oleh TNF dan IL-1 (Baratawidjaja, 2013).

### **2.5.2 Peran TNF- $\alpha$ pada Infeksi**

*Tumor Necrosis factor* (TNF) merupakan sitokin yang berperan penting dalam meregulasi proses inflamasi. Pada kasus infeksi, peran utama dari TNF- $\alpha$  adalah untuk memfasilitasi komunikasi sel ke sel dalam mengontrol invasif infeksi (Ellerin *et al.*, 2003). Selain itu, TNF juga berkaitan dengan beberapa peran penting dalam patogenesis dan perkembangan syok septik. Hal ini terjadi melalui aktivasi makrofag sehingga merangsang produksi dan pelepasan sitokin lainnya (Spooner *et al.*, 2006).

Infeksi yang disebabkan oleh bakteri gram positif salah satunya *Streptococcus agalactiae* diketahui mampu merangsang pelepasan sitokin proinflamasi oleh makrofag seperti TNF. Hal ini disebabkan oleh komponen dinding bakteri gram positif yang mengandung peptidoglikan dan asam lipoteikoat (Vallejo, 1996). Penelitian Rosati *et al.* (1998) menunjukkan bahwa kadar sitokin proinflamasi terutama TNF- $\alpha$  dan IL-1 $\beta$  dalam waktu 2 jam setelah injeksi bakteri streptokokus grup B masih rendah, namun dalam waktu 24 jam kadar sitokin TNF- $\alpha$  dan IL-1 $\beta$  ini meningkat dan lebih meningkat lagi pada waktu 36 jam setelah injeksi bakteri streptokokus grup B. Penelitian lain oleh Schulte *et*

al. (2013) yang menyatakan bahwa puncak konsentrasi TNF- $\alpha$  yang dikeluarkan ke dalam sirkulasi sistemik dideteksi dalam waktu 60-90 menit setelah induksi *Lipopolysacharida* (LPS) yaitu endotoksin yang diproduksi dalam bakteri.

Secara khusus, respon inflamasi terjadi ketika sel *host* terinfeksi bakteri patogen. Ketika sejumlah bakteri menyerang, maka respon lokal bertugas membersihkan patogen. Makrofag bertugas memfagositosis bakteri dan menghasilkan sitokin proinflamasi. Hal ini merupakan respon sistem imun bawaan terhadap bakteri patogen. Makrofag yang terpolarisasi mulai menghasilkan sitokin proinflamasi yaitu IL-1 $\beta$ , TNF dan IL-6 serta kemokin-kemokin seperti IL-8. Kedua jenis substansi tersebut merekrut APC seperti makrofag dan sel dendritik untuk memberitahukan host adanya infeksi melalui *pathogenassociated molecular patterns* (PAMP). Molekul dikenali oleh *pathogenrecognition receptors* (PRRs) pada APC dan merespon dengan mensekresi sitokin yang berkontribusi pada respon inflamasi bawaan (Deborah et al., 2011; Abbas & Litchman., 2015).

Selain itu, selama infeksi bakteri adanya interaksi antara APC dan limfosit memicu respon imun adaptif. Antigen mikroba dipresentasikan kepada sel T oleh APC, ketika sinyal diterima oleh sel T CD4<sup>+</sup> efektor maka sel tersebut mensekresi sitokin antara lain IFN-gamma. IFN-gamma mengaktifkan sel fagosit untuk membunuh bakteri intraseluler dan berinteraksi dengan sel B untuk menghasilkan antibodi terhadap mikroba. Selain itu, sel-sel T meningkatkan ekspresi ligan CD40 dan berikatan pada APC. Proses ini menyebabkan pelepasan IL-2 dan memelihara ekspresi molekul costimulatori, sehingga menyebabkan adanya komunikasi antara innate dan adaptive (Kresno, 2010).



## 2.6 Interleukin 1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ )

### 2.6.1 Definisi Interleukin 1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ )

Interleukin 1 adalah suatu sitokin yang dikeluarkan pada awal terjadinya inflamasi dan dihasilkan oleh berbagai jenis sel selain makrofag seperti neutrofil, sel-sel epitel (misalnya keratinosit) dan sel-sel endotel dan memiliki efek pada berbagai jaringan. Interleukin 1 terdiri dari 3 jenis yaitu IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$  dan IL-1 reseptor antagonis (IL-1Ra). Interleukin 1 alfa dan IL-1 $\beta$  bersifat agonis menimbulkan reaksi radang atau disebut sitokin proinflamasi. Sedangkan IL-1Ra bersifat menghambat efek biologis IL-1 atau disebut sitokin antiinflamasi. Interleukin 1 (IL-1) merupakan sebuah mediator dari respon inflamasi akut dan memiliki aktivitas yang serupa dengan TNF (Irsyandi, 2008; Abbas, 2015)

Produksi IL-1 biasanya membutuhkan dua signal yang berbeda. Pertama, mengaktifkan transkripsi gen baru dan produksi *33-kD precursor pro IL-1 $\beta$  polypeptide*. Kedua, mengaktifkan inflammasome secara proteolitik untuk menghasilkan *17-kD mature IL-1 $\beta$  protein*. Transkripsi gen IL-1 $\beta$  diinduksi oleh jalur signal *Toll Like Receptor* (TLR) dan *NOD-Like Receptor* (NLR) yang mengaktifkan *Nuclear Factor-Kappa beta* (NF- $\kappa$ B), sedangkan Pro-IL-1 $\beta$  dimediasi oleh NLRP3 inflammasome. Interleukin 1 memediasi efek biologis melalui membran reseptor yang disebut reseptor IL-1 tipe I yang diekspresikan oleh kebanyakan jenis sel, termasuk sel endotel, sel epitel dan leukosit. Reseptor ini merupakan integral protein yang mengacu pada TLRs. Peristiwa signaling yang terjadi ketika IL-1 berikatan dengan reseptor IL-1 tipe I yang dipicu oleh TLRs dan menghasilkan aktivasi NF- $\kappa$ B dan faktor transkripsi AP-1 (Abbas & Litchman., 2015).

Interleukin 1 beta (IL-1 $\beta$ ) dianggap sebagai mediator yang sangat penting dalam proses inflamasi yang dapat diamati secara *in vitro* dan *in vivo*. Dalam mengamati secara *in vivo*, IL-1 berperan dalam menginduksi peningkatan suhu

tubuh (demam). Timbulnya demam merupakan fungsi neuroendokrin IL-1 $\beta$  karena terangsangnya pusat panas pada daerah hipotalamus. Oleh karena itu, sitokin ini disebut pirogen endogen yaitu agen host derivat penyebab demam, sehingga membedakan sitokin ini dari LPS yang dianggap sebagai pirogen eksogen. Selain itu IL-1 juga dapat menyebabkan abnormalitas hemodinamik, anorexia, malaise, arthragia, sakit kepala dan neutrophillia (Subowo, 2009; Abbas & Lichtman., 2015).

Dampak biologis IL-1 $\beta$  bergantung pada jumlah sitokin yang dilepaskan. Pada kadar yang rendah, fungsi utamanya adalah sebagai mediator inflamasi lokal. Sedangkan pada kadar yang tinggi akan memasuki sirkulasi darah dan menyebabkan demam. Selain itu IL-1 merangsang ekspresi berbagai reseptor antigen pada permukaan sel untuk meningkatkan respon imun spesifik (secara tidak langsung), interferon gamma dan faktor kemotaktik (Kresno, 2010). Sejumlah besar sitokin terutama TNF, IL-1 dan IL-6 dan kemokin semuanya disekresikan pada daerah infeksi atau jaringan yang rusak, hal ini berefek pada sel endotel pembuluh darah dan leukosit di sumsum tulang, dimana secara bersama-sama meningkatkan respon imun lokal yang dapat melawan infeksi dan memperbaiki jaringan yang rusak (Abbas & Lichtman., 2015).

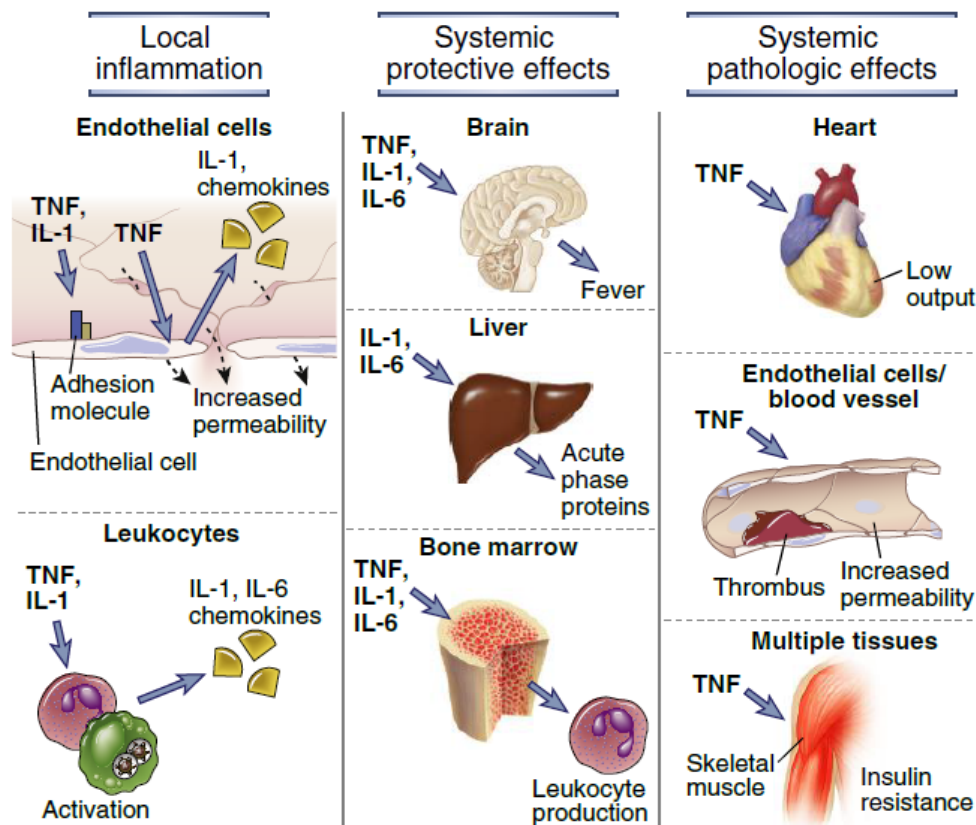
### **2.6.2 Peran IL-1 $\beta$ pada infeksi**

*Tumor Necrosis factor* (TNF), Interleukin 1 (IL-1) dan Interleukin 6 (IL-6) diproduksi selama respon imun bawaan terhadap terjadinya infeksi dan kerusakan jaringan yang memiliki efek sistemik yang berkontribusi terhadap pertahanan *host* dan bertanggungjawab pada manifestasi klinik infeksi dan penyakit radang (Abbas & Litchman., 2015).

Interleukin 1 beta (IL-1 $\beta$ ) merupakan salah satu sitokin proinflamasi yang dapat mempengaruhi setiap organ dan mampu menyebabkan efek patologis

pada manusia terutama bila terjadi produksi IL-1 $\beta$  yang tidak terkendali. Interleukin 1 beta (IL-1 $\beta$ ) diketahui memberikan perlindungan terhadap infeksi yang disebabkan oleh bakteri, virus dan jamur dengan mengaktifkan beberapa respon termasuk perekrutan neutrofil secara cepat ke tempat inflamasi, aktivasi molekul adhesi endotel, induksi sitokin dan kemokin, induksi respon demam dan stimulasi dari sistem imun adaptif seperti respon Th17. Penghambatan pada fungsi IL-1 menggunakan IL-1R antagonis IL-1ra berkaitan dengan peningkatan kerentanan *host* terhadap infeksi bakteri. Di antara beberapa sitokin proinflamasi lainnya, IL-1 $\beta$  memiliki potensi tinggi untuk menyebabkan kerusakan pada jaringan *host*, sehingga sitokin ini diketahui memiliki efek yang merugikan (Sahoo *et al.*, 2011).

Pada Infeksi nifas yang disebabkan oleh bakteri Streptokokus grup A terjadi peningkatan dari produksi sitokin inflamasi seperti IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$  yang terkait dengan perubahan respon inflamasi dari sistem imun bawaan, sehingga hal ini menyebabkan kerentanan dan keparahan dari infeksi nifas (Spargen, 2012).



**Gambar 2.5 Peran sitokin pada inflamasi lokal dan sistemik**

TNF, IL-1 dan IL-6 memiliki beberapa efek pada inflamasi lokal dan sistemik. TNF dan IL-1 bertindak pada leukosit dan endotelium untuk menginduksi inflamasi akut, dan kedua sitokin ini menginduksi ekspresi IL-6 dari leukosit dan jenis sel lainnya. TNF, IL-1, dan IL-6 memediasi efek proteksi sistemik dari inflamasi termasuk induksi demam, sintesis protein fase akut oleh hati, dan peningkatan produksi leukosit oleh sumsum tulang. Peningkatan TNF secara sistemik dapat menyebabkan kelainan patologis yang menyebabkan syok septik, termasuk menurunnya fungsi jantung, trombosis, kebocoran kapiler dan kelainan metabolik akibat resistensi insulin (Abbas dan Litchman., 2015)

## 2.7 Tanaman Turi Merah (*Sesbania grandiflora* L.Pers)

Tanaman turi atau *Sesbania grandiflora* L. Pers merupakan tanaman berbentuk pohon kecil (tinggi mencapai 10 m) dan digolongkan ke dalam famili *Fabaceae*. Tanaman ini diduga berasal dari Asia Selatan dan Asia Tenggara, namun sekarang telah tersebar ke berbagai daerah tropis di dunia (Nasution dkk., 2010). Di Indonesia, Tanaman ini sudah banyak dikenal terutama di wilayah Indonesia bagian tengah dan timur. Hal tersebut menyebabkan banyak nama

yang diberikan pada tanaman ini. Setiap daerah dan Negara menyebutkan tanaman turi dengan nama yang berbeda-beda (Hayne, 1987)

Klasifikasi dari tanaman turi merah menurut Nasution dkk. (2010) adalah sebagai berikut :

Kingdom : Plantae (Tumbuhan)  
Devisi : Mangnoliophyta (Tumbuhan berbunga)  
Kelas : Magnoliopsida (berkeping dua/dikotil)  
Ordo : Fabales  
Famili : Fabaceae (suku polong-polongan)  
Bangsa : Robinieae  
Genus : *Sesbania*  
Spesies : *Sesbania grandiflora* (L) Pers

### **2.7.1 Morfologi Turi Merah**

Turi (*Sesbania grandiflora* L. Pers) dideskripsikan sebagai tanaman yang relatif tidak berumur panjang, hal ini dikarenakan pertumbuhannya yang cepat, perakaran dangkal dan memiliki cabang menggantung. Tanaman ini berbentuk pohon dengan percabangan jarang dan mendatar, batang utama tegak, tajuk cenderung meninggi (Nasution dkk., 2010).

Daun dari tanaman ini berbentuk lonjong (oval), bersifat majemuk menyirip ganda, dan letaknya tersebar. Panjang daun sekitar 20-30 cm dengan daun penumpu. Anak daun bertangkai pendek dengan jumlah yaitu kurang lebih 20-50 pasang anak daun dalam satu tangkai. Helaian anak daun berbentuk jorong memanjang, tepi rata, panjang 3-4 cm, lebar 0.8-1.5 cm (Nasution dkk., 2010).



**Gambar 2.6 Batang Tanaman Turi Merah**

Batang dari tanaman turi memiliki tinggi kurang lebih 8-15 meter, berdiameter sekitar 20-30 cm. Kulit bagian luar batangnya bertekstur kasar dan berwarna abu-abu kehitaman. Pada bagian kulit luar juga terdapat retakan vertikal yang panjang dengan lebar sebesar 1-2 cm. Bagian dalam dari kulit batang tanaman ini berisi lendir berwarna kuning kemerahan yang akan keluar apabila ditoreh (Nasution dkk., 2010).

Daun dari tanaman ini berbentuk lonjong (oval), bersifat majemuk menyirip ganda, dan letaknya tersebar. Panjang daun sekitar 20-30 cm dengan daun penumpu. Helaian anak daun berbentuk jorong memanjang, tepi rata, panjang 3-4 cm, lebar 0.8-1.5 cm (Nasution dkk., 2010).

Bunganya tersusun majemuk, dan mahkotanya berwarna putih, tipe kupu-kupu khas *Faboideae*, serta terdapat buah yang berbentuk polong dan menggantung (Nasution dkk., 2010).

Buah dari tanaman turi berbentuk polong dimana polong berwarna hijau ketika masih muda, dan akan berwarna kuning setelah tua. Polong tersebut memiliki bentuk yang ramping, lurus dan bagian ujungnya meruncing. Panjang polong sekitar 30-50 cm dan lebar sekitar 1-1.5 cm (Nasution dkk., 2010).



**Gambar 2.7 Bunga Tanaman Turi**

Bunga dari tanaman turi tumbuh pada ketiak daun dan berbentuk tandan. Kelopak bunga turi berbentuk bulan sabit. Sementara itu mahkota bunga berbentuk lonceng dan menggantung. Terdapat dua macam mahkota bunga berdasarkan varietasnya yaitu turi dengan mahkota bunga yang berwarna putih dan merah (Nasution dkk., 2010).

### 2.7.2 Kandungan Kimia

Setiap bagian dari tanaman turi merah (*Sesbania grandiflora* L. Pers) memiliki beberapa kandungan yang berbeda menurut Ipteknet (2005) dan Ong (2008) yaitu :

1. Biji polong : 40-70% protein, 6.5% nitrogen
2. Bunga : Kalsium, zat besi, zat gula, flavonoid, saponin, vitamin A, dan vitamin B
3. Daun : Saponin, tanin, flavonoid, peroksidase, vitamin A, dan vitamin B. Selain itu juga terdiri dari 77.2% air, 9.7% karbohidrat, 8.4% protein, 2-5% serat, 3-5.5% nitrogen, 1% lemak, kalsium, zat besi, fosfor, natrium, kalium dan vitamin C.
4. Kulit : Getah dan Zat Merah

5. Batang : Tanin, egatin, zantoegatin, basorin, resin, calcium oksalat, sulfur dan zat warna
6. Akar :  $\beta$ -mercaptoethanol

Selain itu, Dethe *et al.* (2014) menemukan kandungan fitokimia secara kualitatif dari tanaman turi (*Sesbania grandiflora*) dan *Pistia stratiotes* dengan menggunakan berbagai tes yaitu sebagai berikut :

**Tabel 2.1 Fitokimia *Sesbania grandiflora* dan *Pistia stratiotes***

Phytochemical Tests	<i>Sesbania grandiflora</i>		<i>Pistia stratiotes</i>
	Flower extract	Leaves extract	Leaves extract
<b>Alkaloids</b>			
Wagner's Test	+	+	+
Hager's Test	+	+	+
<b>Carbohydrates</b>			
Molisch's Test	-	-	-
Benedict's Test	+	-	-
Fehling's Test	+	-	-
Starch	-	+	+
<b>Saponins</b>			
Froth Test	+	+	-
<b>Phytosterols</b>			
Libermann Burchard's test	-	+	+
<b>Triterpenes</b>			
Salkowski's Test	+	+	-
<b>Phenols</b>			
Ferric Chloride Test	+	+	+
<b>Flavonoids</b>			
Alkaline Reagent Test	+	+	-
Lead Acetate Test	+	+	+
Glycosides	-	+	+
Steroids	+	-	+
Tannis	+	+	+
<b>Terpenoids</b>			
Salkowski's test	-	-	-
Oxalic acid	+	+	+
Triterpens	+	+	-

### 2.7.3 Bahan Aktif Daun Turi Merah yang Diduga Memiliki Efek Antibakteri

Daun turi merah memiliki beberapa kandungan kimia seperti alkaloid, karbohidrat, saponin, fitosterol, triterpenen, fenol, flavonoid, tanin, terpenoid.



beberapa kandungan kimia tersebut tiga diantaranya diduga memiliki efek sebagai antibakteri yaitu flavonoid, saponin, dan tanin.

## **1. Flavonoid**

Flavonoid atau disebut juga sebagai bioflavonoid adalah jenis polifenol yang terdapat hampir pada seluruh tanaman yang terkonsentrasi di bagian daun, kulit, buah, biji dan bunganya. Senyawa fenol ini yang bertanggung jawab terhadap karakteristik organoleptik dari tanaman tersebut yaitu terhadap warna, rasa dan kandungan nutrisi di dalamnya. Sejauh ini lebih dari 6.000 jenis flavonoid yang telah teridentifikasi. Setiap tanaman mempunyai kombinasi flavonoid yang unik, dengan efek yang mungkin berbeda-beda. Kajian bidang farmasi menunjukkan bahwa flavonoid bisa menjadi antioksidan yang baik, Flavones dan katekin merupakan flavonoid yang paling kuat dalam menangkal *reactive oxygen spesies* (ROS) yang dapat menyebabkan kerusakan sel dan jaringan pada tubuh. Selain itu beberapa derivat dari flavonoid ini juga bisa digunakan untuk mengobati berbagai jenis penyakit diantaranya sebagai antijamur, antivirus dan antibakteri (Cushnie and Lamb, 2005).

### **1.1 Flavonoid sebagai antibakteri**

Senyawa fenol mempunyai sifat efektif menghambat pertumbuhan virus, bakteri dan jamur. Flavonoid sebagai antibakteri menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri, mikrosom dan lisosom sebagai hasil interaksi antara flavonoid dengan DNA bakteri. Selain itu, flavonoid juga mampu menghambat motilitas bakteri (Sabir, 2005).

Terdapat tiga mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri menurut Cushine dan lamb (2005) yaitu mencegah sintesis asam nukleat sehingga menghambat sintesis DNA dan RNA bakteri, menghambat fungsi membran sitoplasma bakteri dan menghambat metabolisme energi bakteri. Selain itu, katekin dalam kelompok flavonoid juga memiliki aktivitas yang lebih besar

sebagai antibakteri pada bakteri gram positif dan gram negatif yaitu bertindak dengan merusak membran bakteri dan mengganggu fungsi barrier dari bakteri (Cushnie and Lamb, 2005). Sedangkan menurut Juliantina dkk. (2008) flavonoid merupakan senyawa fenol yang dapat bersifat sebagai koagulator protein. Flavonoid berfungsi sebagai antibakteri dengan cara membentuk senyawa kompleks terhadap protein ekstraseluler yang mengganggu integritas membran sel bakteri.

## 1.2 Farmakokinetik

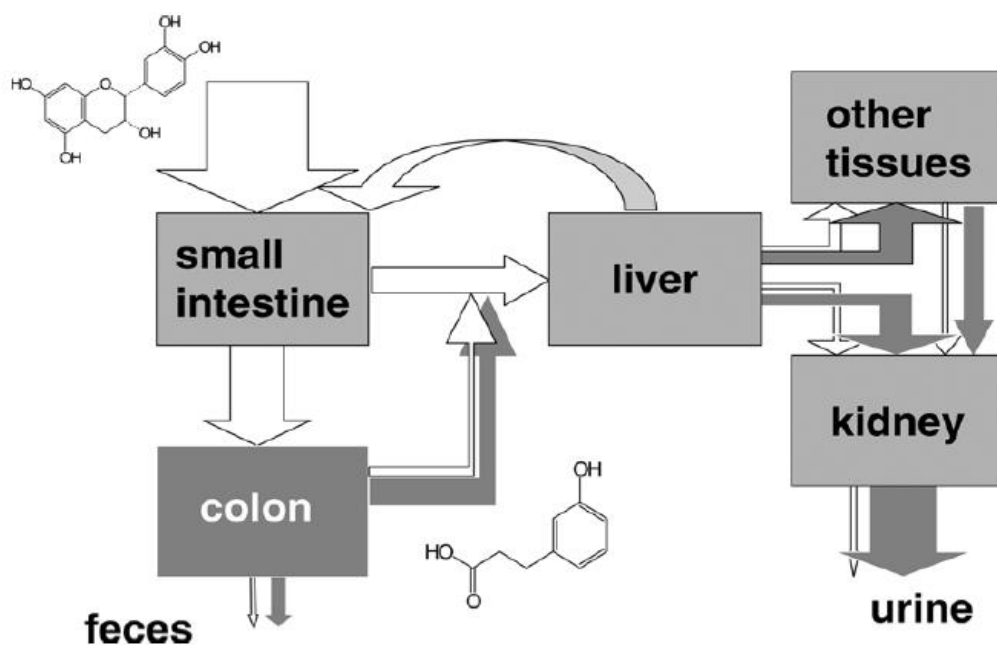
Farmakokinetik adalah ilmu yang mempelajari tentang absorpsi, distribusi, metabolisme atau biotransformasi dan ekskresi obat, secara singkat artinya pengaruh tubuh terhadap obat (Anis, 2009).

Kebanyakan flavonoid kecuali untuk golongan katekin yang ada pada tumbuhan terkonjugasi dengan glikosida yaitu  *$\beta$ -glycosides*. Hal ini yang menentukan absorpsi dari usus kecil atau usus besar sebelum absorpsi terjadi. *Glucosides* adalah salah satu glikosida yang dapat diserap dari usus kecil. Penyerapan pada usus kecil lebih efisien daripada penyerapan dari usus besar, dimana penyerapan dari usus kecil mengakibatkan peningkatan nilai plasma (Holman, 2004).

Sebelum flavonoid dari makanan dapat diserap oleh usus, flavonoid tersebut harus dikeluarkan terlebih dahulu dari makanan yang berasal dari tumbuhan dengan proses mengunyah. Absorpsi flavonoid yang dikeluarkan dari makanan akan tergantung pada sifat fitokimia seperti ukuran molekul dan konfigurasi, lipofilisitas, kelarutan dan pKa. Mayoritas flavonoid dalam bentuk glikosida berikatan dengan molekul gula. Secara biologis, usus akan memecahnya menjadi aglycon bebas gula. Hal ini dikarenakan glikosida dianggap terlalu hidrofilik untuk penyerapan secara pasif difusi dalam usus kecil, sehingga hanya aglycon yang mungkin dapat diserap dalam usus kecil. Setelah

penyerapan dari usus kecil, flavonoid terkonjugasi dengan *glucuronic acid* atau *Sulfate* atau dapat terjadi dengan *O-methylation*. Reaksi konjugasi yang terjadi pada absorpsi usus kecil bagian atas sangat efisien. Dimana menyebabkan tidak ada aglycon flavonoid bebas dapat ditemukan dalam plasma atau urine, kecuali katekin. Setelah mengalami perpecahan, flavonoid yang tidak dapat diserap oleh usus kecil akan mengalami fermentasi oleh bakteri yang ada di usus besar. Flavonoid dimetabolisme di usus oleh bakteri mikroflora usus. Mikroorganisme ini akan memecahkan flavonoid struktur cincin (Holman, 2004)

Selanjutnya metabolit diserap melalui membran gastrointestinal dan dibawa menuju liver. Metabolit flavonoid terjadi di hati, terkonjugasi dengan *glucuronic acid*, *sulfate*, atau *glycine* kemudian disekresikan dari tubuh melalui urine dan empedu. Diketahui flavonoid golongan flavonol ditemukan rendah pada ekskresi melalui urine manusia, sedangkan flavonoid golongan quercetin ditemukan tinggi pada ekskresi melalui urine (Holman, 2004).



**Gambar 2.8. Metabolisme fenol dari tanaman.**

Panah putih menggambarkan aliran flavonoid dengan sistem *ring* di dalam tubuh. Panah abu-abu menggambarkan aliran metabolit kolon, asam fenolik. Lebar panah menunjukkan kepentingan relatif dari dua kelas yang berbeda dari metabolit (Hollman, 2004).

## 2. Saponin

Saponin merupakan senyawa glikosida kompleks dengan berat molekul tinggi yang dihasilkan terutama oleh tanaman. Saponin banyak dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai bahan pembuat sabun. Saponin diketahui larut dalam air dan etanol, tetapi tidak larut dalam eter, sehingga ekstraksi saponin dari tanaman paling tepat dengan pelarut etanol 70%-96% atau pelarut metanol (Suharto *et al.*, 2001). Saponin mengandung gugus gula terutama glukosa, galaktosa, xylosa rhamnosa atau methylpentosa yang berikatan dengan suatu aglikon hidrofobik (Sapogenin) berupa triterpenoid, steroid atau steroid alkaloid. Saponin terdapat pada berbagai spesies tanaman, baik tanaman liar maupun tanaman budidaya.

### 2.1 Saponin sebagai antibakteri

Nuria dkk. (2009) menyebutkan bahwa mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri adalah dengan menurunkan tegangan permukaan sehingga mengakibatkan naiknya permeabilitas atau kebocoran sel dan mengakibatkan senyawa intraseluler keluar. Selain itu, saponin juga bekerja sebagai antibakteri dengan mengganggu stabilitas membran sel bakteri, kemudian akan menyebabkan penurunan tegangan permukaan dan mengakibatkan permeabilitas sel bakteri meningkat. Proses tersebut akan mengakibatkan kerusakan membran sel dan menyebabkan keluarnya berbagai komponen penting dari dalam sel bakteri yaitu protein, asam nukleat, dan nukleotida yang akhirnya menyebabkan sel bakteri lisis (Darsana *et al.*, 2012).

### 2.2 Farmakokinetik

Saponin memiliki sifat fisikokimia yang tidak menguntungkan dalam hal penyerapan seperti memiliki masa molekul yang besar (>500 Da), kapasitas *hydrogen-binding* yang tinggi (>12) dan fleksibilitas molekul yang tinggi (>10). Sehingga hal ini mempersulit penyerapan oleh jaringan terutama terjadi di dalam

saluran pencernaan usus halus dan menurunkan permeabilitas membran. Penurunan permeabilitas saponin menunjukkan konsentrasi saponin pada sebagian jaringan tikus lebih rendah dibandingkan dalam plasma. Namun, konsentrasi saponin ditemukan banyak dalam hati. Pada organ ginjal saponin dapat cukup tinggi yang melibatkan mekanisme *transporter-mediated uptake*. Saponin dapat dihidrolisis oleh mikroflora kolon. Beberapa saponin termasuk *ginsenosides Ra3, Rb1, Rc dan Rd* dan *Dioscin* dieksresikan secara perlahan ke dalam empedu dan memiliki waktu paruh yang panjang (7-25 jam pada tikus) (Keyu *et al.*, 2012)

Disisi lain, saponin diketahui dapat meningkatkan permeabilitas sel mukosa intestinal, menghambat transpor aktif zat makanan dan memudahkan masuknya substansi yang dalam kondisi normal tidak dapat diserap. Selain itu, Saponin diketahui dapat mengganggu penyerapan mineral dan vitamin dalam tubuh. Saponin dapat menekan konsentrasi Fe hati melalui penyerapan Fe yang tidak sempurna dengan membentuk kompleks Saponin-fe. *Sponin lucerne* dapat meningkatkan ekskresi Fe dan Mg, serta menurunkan Ca dan Zn pada plasma. Mekanisme kerja saponin pada usus halus belum sepenuhnya dipahami. Saponin yang dikonsumsi bertemu dengan ligand potensial di dalam usus halus seperti garam empedu, kolesterol, sterol membran sel mukosa dan zat makanan ataupun antinutrisi, yang semuanya dapat menurunkan atau menghambat efektifitasnya (Suparjo, 2011).

### **3. Tanin**

Tanin adalah kelompok dari metabolit fenolik dengan berat molekul antara 500 dan 30000 Da yang terdistribusi pada hampir semua jenis makanan nabati dan minuman. Bagian tumbuhan yang banyak mengandung tanin adalah kulit kayu, daun, akar dan buah (Serrano *et al.*, 2009).

### 3.1 Tanin sebagai antibakteri

Tanin banyak ditemukan pada beberapa jenis makanan seperti teh, biji kakao, anggur, dan strawberry. Bahan astrigen dari tanin mendorong dan menyatu dengan enzim dari mikroba. Sehingga menghambat bakteri dalam pembentukan diri. Hal ini disebabkan karena enzim dari bakteri tercampur dengan enzim tanin. Adanya ion logam dari tanin yang berkumpul dan membentuk *tannins toxicity* dan mempengaruhi pembentukan membran dari mikroorganisme (Akiyama *et al.*, 2001)

Mekanisme kerja tanin sebagai antibakteri menurut Naim (2004) berhubungan dengan kemampuan tanin dalam menginaktivasi molekul yang menempel pada sel hospes yang terdapat pada permukaan sel. Enzim yang terikat pada membran sel dan polipeptida dinding sel akan menyebabkan kerusakan pada dinding sel, karena tanin merupakan senyawa fenol. Terjadinya kerusakan pada dinding sel bakteri menyebabkan sel bakteri tanpa dinding yang disebut *protoplast*. Kerusakan pada dinding sel bakteri akan menyebabkan kerusakan membran sel bakteri yaitu hilangnya sifat permeabilitas membran sel, sehingga keluar masuknya zat-zat antara lain air, nutrisi, enzim-enzim yang tidak terseleksi. Apabila zat keluar dari dalam sel bakteri, maka akan terjadi hambatan metabolisme sel dan selanjutnya akan mengakibatkan terhambatnya pembentukan ATP yang diperlukan untuk pertumbuhan dan perkembangbiakan sel bakteri. Bila hal tersebut terjadi, maka akan terjadi hambatan pada pertumbuhan sel bahkan kematian sel bakteri (Hayati *et al.*, 2009). Selain itu, tanin juga dapat menghambat enzim *reverse transcriptase* dan DNA *topoisomerase* sehingga asam amino pembentuk sel bakteri tidak dapat terbentuk (Nuria *et al.*, 2009).

### 3.2 Farmakokinetik

Tannin yang berasal dari ekstrak tumbuhan diabsorpsi dengan cepat dari saluran cerna dan kemudian mengalami distribusi dan eliminasi yang cukup cepat pula. Bioavailabilitasnya sangat rendah setelah pemberian peroral. Konsentrasi dalam plasma adalah 213 ng/ml setelah 55 menit pemberian peroral 0,8 g/kgBB ekstrak yang mengandung tanin. Hidrolisis dari tanin kebanyakan terjadi pada usus besar pada pH alkalin (Wang *et al.*, 2010)

Sebagian besar substrat tanin yang dicerna pada usus besar difermentasi oleh bakteri mikroflora dan bersama substrat lainnya yang tidak dapat dicerna. Ketersediaan mikrobiota pada usus besar berperan penting dalam metabolisme tanin. Setelah enzim mikrobiota memetabolisme tanin pada usus besar, maka akan terjadi kerusakan pada struktur asli tanin ke dalam metabolisme yang tidak dapat diserap (kemungkinan setelah dari berat molekul tanin) dan tetap berada dalam lumen usus dimana mereka dapat menetralkan prooksidan dari makanan dalam usus besar yang dihasilkan selama metabolisme mikroba usus. Telah dilaporkan bahwa *hydrolysable* yang terdegradasi ke *gallic acid*, *pirogallol*, *phloroglucinol* dan akhirnya menjadi asetat dan butirat yang terjadi melalui aksi enzim bakteri yang berbeda-beda. *Galotanin* mudah terdegradasi oleh bakteri, jamur dan ragi, sedangkan residu *galloy* hanya dapat dihidrolisis pada *ellagitannins* oleh mikroba (Serrano *et al.*, 2016).

Senyawa-senyawa tannin misalnya *ellagic acid* dapat bereaksi dengan radikal bebas dengan kemampuannya untuk berikatan dengan ion-ion metal, sehingga mempunyai efek antioksidan yang poten terhadap lipid peroksidasi dalam mitokondria dan mikrosom. Aksinya sebagai antioksidan ditandai oleh kemampuannya untuk menyediakan elektron sehingga mengeliminasi radikal bebas hasil peroksidasi lipid (Wang *et al.*, 2010).

Tumbuhan herbal yang mengandung banyak tannin dianjurkan untuk tidak diberikan bersama-sama dengan herbal yang mengandung alkaloid, karena campuran kedua senyawa tersebut akan menyebabkan terjadinya presipitasi. Pemberian tannin bersama-sama dengan ekstrak yang banyak mengandung protein kemungkinan akan terjadi reaksi presipitasi juga oleh karena interaksi farmakologik sehingga akan mengurangi bioavailabilitas bahan aktif dalam ekstrak (Ajaikumar *et al.*, 2005; Haidari *et al.*, 2009). Penelitian yang dilakukan Serafini *et al.* (1996) menunjukkan bahwa pemberian susu yang dicampur dengan teh hijau dan teh hitam akan terjadi interaksi farmakologik sehingga meniadakan efek antioksidan dari kedua jenis teh.

#### **2.7.4 Penelitian Tentang Tanaman Turi Sebagai Antibakteri (*Sesbania grandiflora* L.Pers)**

Tanaman turi diketahui memiliki efek sebagai antibakteri untuk beberapa bakteri gram positif atau bakteri gram negatif yaitu sebagai berikut :

1. Penelitian Naqi Taha (2014) mengungkapkan bahwa adanya kandungan kimia bioaktif dari ekstrak daun *Sesbania grandiflora* berdasarkan analisis fitokimia metanol dan etanol diantaranya flavonoid, alkaloid, steroid, fenol, karbohidrat dan antrakuinon, serta tanin, saponin, terpenoids, asam amino, dan pitosterol. Selain itu ekstrak etanol dari *Sesbania grandiflora* dapat digunakan sebagai antibakteri terhadap bakteri gram positif seperti *Streptococcus*, *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) dan bakteri gram negatif seperti *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Salmonella typhi* (MTCC 733), *Proteus vulgaris* (MTCC 1771), *Pseudomonas aeruginosa* (MTCC 424), *Klebsiella* (ATCC 15380).
2. Yusniawati (2015) menemukan bahwa ekstrak etanol daun turi merah (*Sesbania grandiflora* L. Pers) mempunyai efek sebagai antibakteri terhadap



*Staphylococcus aureus* dengan Kadar Hambat Minimum (KHM) konsentrasi 14%. Selain itu, Failasufi Mirza (2008) juga menyebutkan bahwa ekstrak bunga turi merah mempunyai efek antibakteri terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* secara in vitro dengan Kadar Hambat Minimum (KHM) 5% dan Kadar Bunuh Minimum (KBM) 6%.

3. Hasil lain juga ditemukan pada penelitian Noviardi (2007) bahwa ekstrak bunga turi merah memiliki efek antibakteri terhadap penurunan pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* secara in vitro. Selain itu ekstrak bunga turi merah juga berpotensi sebagai antimikroba, hal ini sesuai dengan penelitian Rahman (2008) yang menunjukkan bahwa ekstrak daun turi merah mampu menghambat pertumbuhan *Salmonella typhi* secara in vitro dengan KHM 26% dan KBM 28%.
4. Tanaman turi (*Sesbania Grandiflora*) juga memiliki efek sebagai immunomodulator. Hal ini di sampaikan dalam penelitian Arunabha (2014) bahwa ekstrak metanol bunga *Sesbania Grandiflora* memiliki efek sebagai imunostimulan yang berpotensi meningkatkan respon nonspesifik dalam hal aktivitas fagositosis dan meningkatkan respon imun humoral dan seluler secara efektif.

#### **2.7.5 Peran lain dari kandungan tanaman turi merah (*Sesbania grandiflora* L.Pers)**

Tanaman turi (*Sesbania grandiflora* L.pers) selain memiliki efek sebagai antibakteri juga memiliki efek sebagai immunomodulator. Hal ini disampaikan dalam penelitian Arunabha (2014) menunjukkan bahwa ekstrak metanol dari bunga *Sesbania grandiflora* L.Pers tidak hanya menstimulasi respon imun nonspesifik dalam hal aktivitas fagositosis, tetapi juga meningkatkan respon imun humoral serta imunitas seluler secara efektif.

Immunomodulator terbagi menjadi imunopotensiasi (imunorestorasi dan imunostimulan) dan imunosupresan. Imunorestorasi merupakan proses pengembalian fungsi dari sistem imun yang terganggu dengan komponen sistem imun seperti transplantasi sumsum tulang. Imunostimulan merupakan proses perbaikan fungsi sistem imun menggunakan bahan yang dapat meningkatkan sistem imun baik berbahan biologis (hormon, sitokin) maupun sintetik (levamisol). Imunosupresan merupakan suatu proses menekan sistem imun untuk meminimalisir reaksi penolakan pada transplantasi maupun kerusakan akibat inflamasi (Baratawidjaja dan Rengganis, 2014).

## **2.8 Sistem Imun Mukosa Vagina Traktus Genitalis Wanita**

Vagina merupakan pintu masuk traktus genitalis wanita yang dilapisi oleh epitel skuamus kompleks non-keratinisasi. Permukaan epitel kulit manusia memiliki struktur yang bervariasi, hal ini tergantung lokasi dan fungsinya. Permukaan epitel vagina dan ektoserviks memiliki struktur yang sama, hal ini berbeda dengan endoserviks yang dilapisi oleh sel epitel kolumnar simpleks yang memproduksi mukus yang akan membasahi dan melindungi epitel. Proliferasi dan maturasi sel epitel dipengaruhi oleh regulasi hormonal. Infeksi, trauma fisik, dan kimiawi dapat menyebabkan kerusakan pada sel epitel dan dapat menjadi jalan masuknya patogen. Kulit dan mukosa merupakan pertahanan pertama yang harus dilalui patogen jika menginfeksi (Pudjiati, 2010; Baratawidjaja dan Rengganis., 2014).

Pertahanan kedua yang akan dilalui patogen yaitu sistem imun bawaan pada mukosa. Sistem imun ini akan aktif setelah dipicu adanya invasi dari patogen. Pengenalan imun dimediasi oleh *Pattern Recognition-Receptor* (PRR) yang terdiri dari *Toll-Like Receptor* (TLR), *NOD-like Receptor* (NOD), dan RNA *helicases*. Reseptor tersebut mendeteksi antigen melalui pengenalan protein

pemicu yang dimiliki oleh antigen tersebut yang biasa disebut *Pathogen-Associated Molecular Pattern* (PAMP), misalnya lipopolisakarida yang diproduksi oleh bakteri gram negatif dan *teichoic acid* yang diproduksi oleh bakteri gram positif. Pada saat PRR teraktivasi oleh patogen atau produknya, sel epitel akan melepaskan beberapa kemokin seperti IL-8, RANTES, MIP-1 $\alpha$  dan  $\beta$ , dan SDF 1 yang akan merekrut sel imun yang lain untuk menuju daerah yang terinfeksi. Selain itu juga dilepaskannya beberapa sitokin proinflamasi seperti IL-1 $\beta$  dan TNF- $\alpha$  yang akan mengaktifkan leukosit, serta sitokin IL-6, IL-15, TGF- $\beta$  dan G-CSF yang akan mempengaruhi diferensiasi dan regulasi respon limfosit T dan B. Sel-sel fagositik merupakan komponen utama pada sistem imun bawaan level seluler. Semua sel-sel fagosit yang terdiri dari makroag, neutrofil, eosinofil, sel mast, sel Natural Killer (NK), sel epitelial dan sel dendritik berada pada jaringan mukosa (Pudjiati, 2010)

Hal ini senada dengan yang dijelaskan oleh Abbas & Litchman. (2015) dalam bukunya bahwa pertahanan imun bawaan melawan invasi mikroba dan infeksi pada mukosa genitourinaria tergantung dari lapisan epitel, sebagaimana barrier mukosa yang lain. Tingkatan lapisan epitel skuamosa. Epitel vagina berisi sel langerhans dan variasi dari sel dendritik dan makrofag tersebar dibawah epitel vagina, endoserviks dan uretra. Perbedaan dari fenotipe sel dendritik dan makrofag pada mukosa genital wanita dengan yang berada di saluran gastrointestinal yang mendasar yaitu bahwa pada genital wanita lebih rentan terinfeksi HIV.

Pertahanan ketiga yang dilalui patogen yaitu sistem imun adaptif pada mukosa yang terdiri dari humoral dan seluler. Imunitas humoral dimediasi oleh antibodi yang diproduksi oleh sel plasma. Setelah terstimulasi oleh antigen, sel B yang berada di jaringan limfoid genitourinaria berdiferensiasi menjadi sel plasma, kemudian sel plasma melepaskan IgA yang dapat tersekresi di mukosa jaringan

limfoid genitourinaria dan disebut dengan IgA sekretori (sIgA), sedangkan IgG bergerak ke sumsum tulang atau ke daerah inflamasi (Pudjiati, 2010; Baratawidjaja dan Rengganis., 2014). Tidak seperti mukosa lain, dimana IgA merupakan isotype antibodi yang dominan, genitalia mensekresi antibodi IgG dalam jumlah yang banyak, sekitar setengah dari yang diproduksi sel plasma pada mukosa saluran genitalia, sisanya berasal dari sirkulasi (Abbas & Litchman., 2015).

Immunoglobulin A (IgA) ditemukan dalam jumlah besar pada endoserviks. Setiap hari IgA dibentuk lebih dari 40 mg/kg mukosa. IgA yang berada pada mukosa vagina (sIgA) berbeda dengan IgA pada serum, sIgA terbentuk dari 10-s dimer dan rantai J. Rantai J dibuat oleh sel plasma dan berikatan dengan 7-sIgA monomer menjadi 10-s dimer dan IgA monomer menjadi pentamerik. *Polymerik Ig receptor* (p-IgR) terutama diekspresikan oleh sel epitelial endoserviks (Pudjiati, 2010).

Imunitas seluler pada mukosa merupakan kunci pertahanan terhadap patogen intraseluler. Pada mukosa genitalia juga terdapat sel B dan sel T. Terdapat regional kecil sistem imun adaptif yang khusus pada mukosa genitourinaria, dimana terdapat *Mucosal-Associated Lymphoid Tissue*) yang kurang menonjol (Abbas & Litchman, 2015). Setelah sel dendritik atau *Antigen Presenting cell* (APC) berada di lamina propria teraktivasi oleh antigen, maka sel dendritik akan bermigrasi menuju jaringan limfoid genitourinaria dan mempresentasikan antigen ke limfosit T dan dimulailah suatu respon imun (Pudjiati, 2010; Baratawidjaja dan Rengganis., 2014).

## **2.9 Mencit (*Mus musculus*)**

Mencit (*Mus musculus*) adalah anggota *Muridae* (tikus-tikusan) yang berukuran kecil yang dapat hidup pada daerah dingin ataupun panas. Mencit

merupakan hewan yang paling banyak digunakan sebagai hewan model untuk tujuan penelitian biomedis, pengujian dan pendidikan yaitu berkisar antara 40%-80%. Hal ini dikarenakan memiliki keunggulan-keunggulan seperti mudah dibiakkan, siklus hidup yang relatif pendek, jumlah anak perkelahiran banyak, variasi sifat-sifatnya tinggi, mudah ditangani, serta tergolong murah. Selain itu Mencit juga memiliki struktur organ dalam dan sistem imun yang hampir sama dengan manusia, sehingga mencit (*Mus musculus*) digunakan dalam penelitian ini (Ballenger, 2014).

Klasifikasi mencit (*Mus musculus*) menurut Ballenger (2014) antara lain sebagai berikut :

Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Sub Filum	: Vertebrata
Kelas	: Mamalia
Ordo	: Rodentia
Sub Ordo	: Myoimorphia
Famili	: Muridae
Genus	: <i>Mus</i>
Spesies	: <i>Mus musculus</i>



**Gambar 2.9 Mencit (*Mus musculus*)**

Mencit *Mus musculus* galur Balb/c berwarna putih dengan berat 20-30 gram/kg BB termasuk kedalam kelas mamalia (Riasparkle, 2013)

### 2.9.1 Karakteristik Mencit

Karakteristik mencit (*Mus musculus*) menurut Kusumawati (2004) adalah sebagai berikut :

Lama hidup	: 1-2 tahun, bisa sampai 3 tahun
Lama produksi ekonomis	: 9 bulan
Lama bunting	: 19-21 hari
Kawin sesudah beranak	: 1-24 jam
Umur dewasa	: 35 hari
Umur sapih	: 21 hari
Umur dewasa	: 35 hari
Umur dikawinkan	: 8 minggu (jantan dan betina)
Siklus estrus (menstruasi)	: 4-5 hari
Lama estrus	: 12-14 jam
Ovulasi	: dekat akhir periode estrus, spontan
Fertilisasi	: 2 jam sesudah kawin
Berat dewasa	: 20-40 gram jantan, 18-35 gram betina

Jumlah anak	: rata-rata 6, bisa 15
Suhu rektal	: 37,5°C
Laju respirasi	: 40
Denyut jantung	: 165 x/mm
Pengambilan darah maksimum	: 310-840 x/mm
Jumlah sel darah merah	: 7,7 ml/kg
Jumlah sel darah putih	: 8,4 x 10 <sup>3</sup> /μl
Kadar Haemoglobin (Hb)	: 8,7-10.5 x 10 <sup>6</sup> /μl
Konsumsi pakan perhari	: 5 g (umur 8 minggu)
Konsumsi air minum perhari	: 6,7 ml (umur seminggu)

### 2.9.2 Nifas Mencit

Pada mencit, fase nifas *estrus* akan dimulai antara sekitar 10 dan 24 jam setelah melahirkan dan fase *estrus* ini cenderung terjadi pada malam pertama dan berlangsung setelah 10 jam melahirkan (Gilbert *et al.*, 1985). Long and Mark. (1911) mengemukakan bahwa interval antara kelahiran dan ovulasi berikutnya pada mencit telah dilaporkan sekitar 14 sampai 28 jam. Kondisi berakhirnya masa nifas pada tikus juga bisa dipengaruhi oleh rangsangan aroma dari pejantan disekitarnya yang membuat fase *estrus* lebih cepat terjadi. Pada fase *estrus*, permukaan vagina berlendir, terjadi penurunan ketinggian epitel dan pecahan sisa sel ada di dalam lumen. Fase ini diakhiri dengan terlepasnya epitel bertanduk tidak berinti sehingga terlihat jumlahnya mulai berkurang, disusul terjadinya keratinisasi sel epitel (epitel bergenerasi).

Runner dan Ladman. (1950) telah meneliti hal ini dengan fakta bahwa mereka menemukan nifas (*postpartum*) terjadi secara acak selama jangka waktu 24 jam sedangkan ovulasi dan pembuahan sangat dipengaruhi oleh siklus cahaya. Kecenderungan ovulasi berkurang selama 12-18 jam setelah kelahiran.

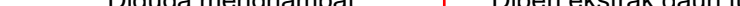
Dimana terjadi kornifikasi vagina yang belum lengkap pada periode ini, dan sel *cornified* dari *smear* biasanya tidak pernah mencapai 100 persen. Selain itu juga berkurangnya pembuahan dan berkurangnya cairan di dalam rahim jika dibandingkan dengan estrus normal.



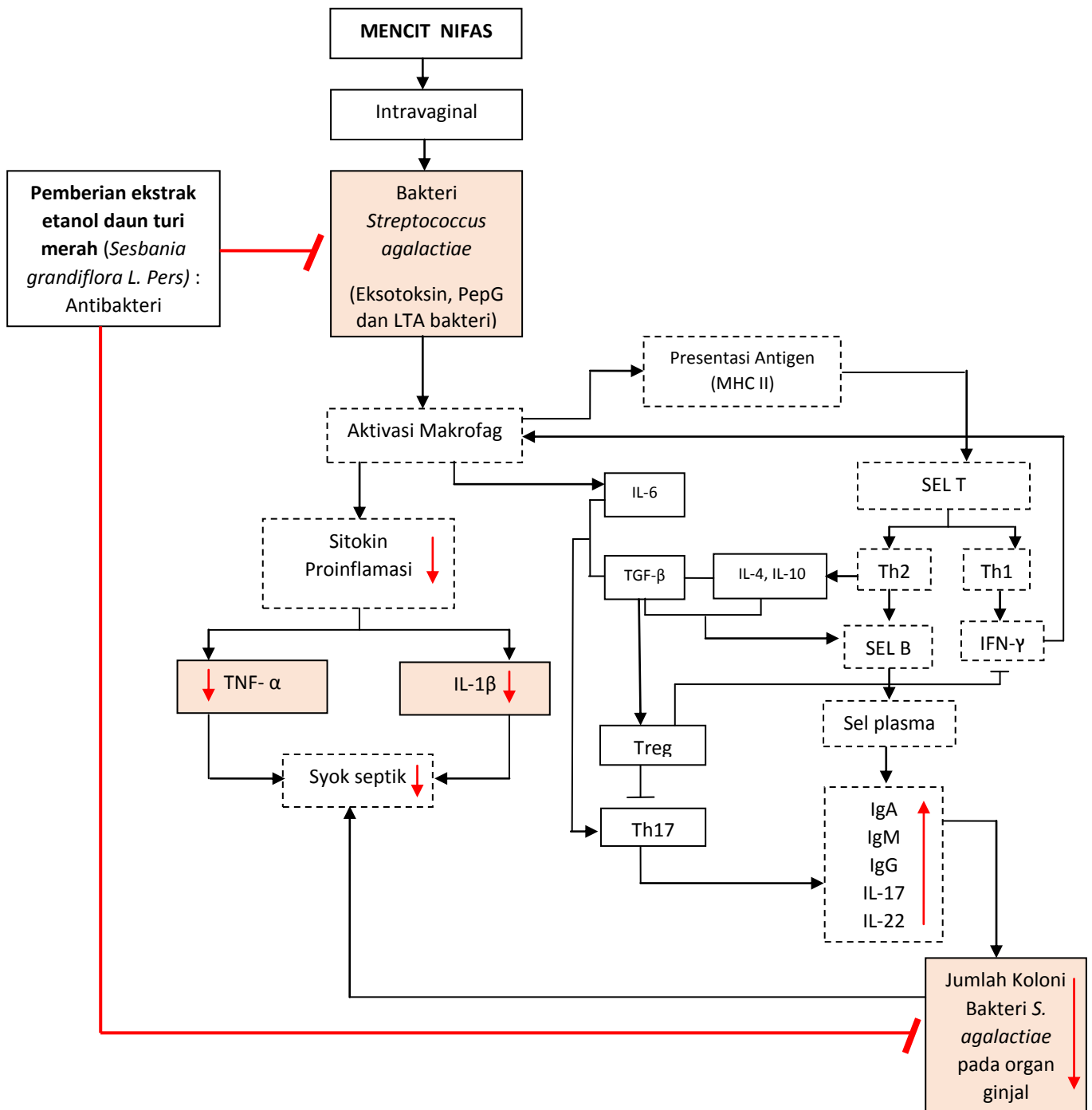
## KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

```
graph TD
    MN[Mencit nifas] --> BSA[Bakteri Streptococcus agalactiae]
    BSA --> B1[Barrier 1 : mucus servik]
    B1 --> IM[Invasi ke dalam mukosa]
    IM --> IN[Infeksi Nifas]
    IN --> EPL[Eksotoksin, PepG dan LTA bakteri <br/> (dikenali TLR)]
    EPL --> SI[Stimulasi Innate immunity]
    SI --> AM[Aktivasi Makrofag]
    AM --> PA[Presentasi Antigen MHC II]
    PA --> SELT[SEL T]
    SELT --> Th2
    SELT --> Th1
    Th2 --> IL4_10[IL-4, IL-10]
    Th1 --> IFN_gamma[IFN-γ]
    IL4_10 --> SELB[SEL B]
    IFN_gamma --> SELB
    SELB --> SP[Sel Plasma]
    SP --> Ig[IgA, IgM, IgG, IL-17, IL-22]
    Ig --> JK[Jumlah Koloni Bakteri S. agalactiae pada organ ginjal]
    AM --> IL6[IL-6]
    IL6 --> TGF_beta[TGF-β]
    TGF_beta --> Treg
    Treg --> Th17
    Th17 --> Ig
    AM --> SI_P[↑ Sitokin Proinflamasi ↓]
    SI_P --> TNF_alpha[↑ TNF-α ↓]
    SI_P --> IL1beta[↓ IL-1β ↑]
    TNF_alpha --> SS[Syok Septik ↓]
    IL1beta --> SS
    SS --> JK
    EDA[Ekstrak daun turi merah <br/> (Flavonoid, Saponin, Tanin) : Antibakteri] -.-> BSA
    EDA -.-> JK
```

**Keterangan :**

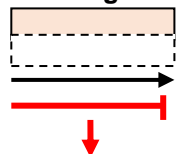


### 3.2 Kerangka Konsep



Gambar 3.2 Kerangka Konsep Penelitian

#### Keterangan :



- : Variabel yang diteliti
- : Variabel yang tidak diteliti
- : Mempengaruhi/memicu
- : Menghambat
- : Diberi ekstrak daun turi merah

### 3.3 Penjelasan Kerangka Konsep

Selama masa nifas, sistem kekebalan tubuh akan menurun. Apabila bakteri *Streptococcus agalactiae* masuk, maka akan menghadapi barier dari sel epitel yaitu berupa mucus servik, jika barier ini bisa ditembus oleh bakteri maka bakteri akan masuk dan berinvasi ke dalam mukosa vagina yang dapat menyebabkan infeksi nifas. Bakteri *Streptococcus agalactiae* menghasilkan toksin berupa eksotoksin yang sitotoksik dan komponen dinding sel bakteri yang terdiri dari *lipoteichoic acid* (LTA) dan *Peptidoglycan* (PepG) akan berikatan dengan TLR pada permukaan makrofag yang dapat menstimulasi respon imun bawaan dan menginduksi aktivasi dari makrofag. Makrofag yang teraktivasi akan mensekresi sitokin proinflamasi. Sitokin proinflamasi ini berperan sebagai indikator terjadinya inflamasi diantaranya adalah TNF- $\alpha$  dan IL-1 $\beta$ . Pengeluaran sitokin proinflamasi terutama TNF- $\alpha$  dan IL-1 $\beta$  dalam jumlah yang berlebihan dapat menimbulkan syok septik. Selain itu, bakteri *Streptococcus agalactiae* juga memiliki dinding luar yang berfungsi sebagai kapsul pelindung yang mampu menolak upaya dari tubuh untuk melawan infeksi.

Pemberian ekstrak daun turi merah (*Sesbania grandiflora* L.Pers) mengandung senyawa fitokimia seperti flavonoid, saponin dan tanin yang berperan sebagai antibakteri terhadap bakteri *Streptococcus agalactiae*. Berdasarkan perannya tersebut maka tubuh akan mengurangi aktivasi sistem yang dapat berpengaruh terhadap sekresi sitokin proinflamasi seperti TNF- $\alpha$  dan IL-1 $\beta$  dan memproses antigen bakteri melalui peran makrofag sebagai APC kepada sel T melalui molekul MHC kelas II. Dalam hal ini Sel T akan berdiferensiasi kepada subset Th2 dan memproduksi sitokin TGF- $\beta$ , IL-4, dan IL-10 yang akan meningkatkan proliferasi sel B dan berdiferensiasi menjadi sel plasma yang memproduksi imunoglobulin A, imunoglobulin G dan imunoglobulin M. Selain itu TGF- $\beta$  merangsang perkembangan sel Treg dan

TGF- $\beta$  dan IL-6 merangsang perkembangan Th17 berdasarkan kemampuannya menginduksi ROR $\gamma$ t. Aktivasi Th17 ini mensekresi sitokin IL-17 dan IL-22, kedua sitokin berfungsi sebagai sistem imun mukosa. Peningkatan dari produksi antibodi dan sistem imun mukosa ini menyebabkan penurunan dari jumlah koloni bakteri *Streptococcus agalactiae* pada organ ginjal dan sitokin proinflamasi seperti TNF- $\alpha$  dan IL-1 $\beta$  akibatnya syok septik tidak terjadi.

### **3.4 Hipotesis Penelitian**

#### **3.4.1 Hipotesis utama**

Pemberian ekstrak daun turi merah (*Sesbania grandiflora* L.Pers) dapat menurunkan kadar TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  dan jumlah koloni bakteri pada ginjal *Mus musculus* nifas yang diinfeksi *Streptococcus agalactiae*.

#### **3.4.2 Sub Hipotesis :**

1. Pemberian ekstrak daun turi merah (*Sesbania grandiflora* L.Pers) menurunkan kadar TNF- $\alpha$  *Mus musculus* nifas yang diinfeksi *Streptococcus agalactiae*.
2. Pemberian ekstrak daun turi merah (*Sesbania grandiflora* L.Pers) menurunkan kadar IL-1 $\beta$  pada plasma darah *Mus musculus* nifas yang diinfeksi *Streptococcus agalactiae*.
3. Pemberian ekstrak daun turi merah (*Sesbania grandiflora* L.Pers) menurunkan jumlah koloni bakteri pada ginjal *Mus musculus* nifas yang diinfeksi *Streptococcus agalactiae*.

## BAB 4

### METODE PENELITIAN

#### 4.1 Jenis dan Desain Penelitian

Desain penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimental murni (*true experimental*) dengan menggunakan *Post test only control grup design*, yaitu peneliti mengukur pengaruh perlakuan pada kelompok eksperimen dengan membandingkan kelompok kontrol, tanpa terlebih dahulu melakukan *pretest* (Notoatmodjo, 2010). Penelitian dilakukan secara *in vivo* menggunakan hewan coba *Mus musculus*. Penelitian eksperimental ini dilakukan untuk membuktikan penurunan kadar TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  dan jumlah koloni bakteri pada ginjal *Mus musculus* nifas yang diinduksi *Streptococcus agalactiae* setelah diberikan perlakuan dengan beberapa dosis ekstrak daun turi merah (*Sesbania grandiflora* L.Pers).

#### 4.2 Tempat dan Waktu Penelitian

##### 4.2.1 Tempat

Penelitian ini dilakukan di beberapa tempat berdasarkan tahapan proses yang dilakukan.

1. Laboratorium Hama dan Penyakit Tanaman (HPT) Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya Malang sebagai tempat pembuatan ekstrak daun turi merah.
2. Laboratorium Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang sebagai tempat identifikasi senyawa flavonoid, saponin, dan tanin dalam ekstrak daun turi merah.
3. Laboratorium Bio Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim sebagai tempat mendapatkan mencit bunting hari ke-14.

4. Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang sebagai tempat pemeliharaan mencit dari mulai mencit bunting 14 hari sampai masa nifas dan tempat pemeriksaan TNF- $\alpha$
5. Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang sebagai tempat pengembangan dan kultur bakteri *Streptococcus agalactiae* yang didapatkan dari Laboratorium Mikrobiologi Rumah Sakit Saiful Anwar Malang
6. Laboratorium Fisiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang sebagai tempat pemeriksaan IL-1 $\beta$ .
7. Laboratorium Mikrobiologi Rumah Sakit Saiful Anwar Malang sebagai tempat pembelian bakteri dan reidentifikasi bakteri *Streptococcus agalactiae*

#### **4.2.2 Waktu Pelaksanaan Penelitian**

Penelitian ini dilakukan dalam kurun waktu 1 bulan terhitung sejak Juli 2016 hingga Agustus 2016

### **4.3 Sampel Penelitian dan Replikasi**

#### **4.3.1 Sampel**

Penelitian ini menggunakan sampel hewan coba berupa mencit (*Mus musculus*) bunting hari ke-14. Sampel hewan coba mencit *Mus musculus* didapatkan dari Laboratorium Biologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. Pemilihan sampel pada penelitian ini dilakukan secara acak.

Berikut ini merupakan kriteria inklusi subjek mencit yang diikutkan ke dalam penelitian ini :

- a. Mencit (*Mus musculus*) balb/c bunting hari ke-14
- b. Sehat yang ditandai dengan bergerak aktif
- c. Berat badan antara 30-40 gram

- d. Mencit belum mendapatkan perlakuan apapun

Sedangkan kriteria eksklusi adalah sebagai berikut :

- a. Mencit mati karena perlakuan
- b. Sebelumnya pernah digunakan untuk eksperimen lain
- c. Mencit betina yang sakit, cacat atau mati sebelum perlakuan penelitian selesai dilakukan
- d. Terdapat kelainan anatomi

Pada penelitian ini dosis ekstrak daun turi merah yang digunakan mengacu pada penelitian Vipin Kachroo *et al.* (2011) tentang kemampuan ekstrak daun turi merah (*Sesbania Grandiflora L. Pers*) sebagai antimikroba pada mencit dengan dosis pemberian 250 mg/kgBB/hari. Sedangkan peningkatan dosis pemberian ekstrak daun turi berdasarkan deret ukur yaitu 125 mg/kgBB/hari, 250 mg/kgBB/hari, 500 mg/kgBB/hari.

#### 4.3.2 Replikasi

Replikasi mencit (*Mus musculus*) balb/c ini ditentukan berdasarkan rumus replikasi dari Sujarweni (2015).

$$(t - 1)(r - 1) \geq 15$$

Keterangan :

t : Banyaknya kelompok perlakuan

r : jumlah replikasi (banyaknya ulangan) pada tiap kelompok perlakuan

Penelitian ini terdiri dari 4 kelompok sehingga didapatkan jumlah replikasi sebagai berikut :

$$(4-1)(r-1) \geq 15$$

$$3r - 3 \geq 15$$

$$3r \geq 18$$

$$r \geq 6$$

Berdasarkan rumus replikasi tersebut, banyaknya mencit yang dibutuhkan dalam penelitian ini sebesar  $4 \times 6 = 24$  ekor mencit, dengan cadangan masing-masing perlakuan 1 ekor mencit jadi total sampel adalah  $24 + 4 = 28$  ekor mencit.

Mencit (*Mus musculus*) balb/c yang bunting kemudian dibagi ke dalam 4 kelompok perlakuan masing-masing kelompok terdiri dari 7 ekor mencit yaitu :

- |                         |  |
|-------------------------|--|
| Kelompok Kontrol (K)    | : Mencit nifas yang diinjeksi <i>Streptococcus agalactiae</i> secara intravaginal dengan dosis $5 \times 10^3$ CFU/ mL sebanyak 0,2 ml tanpa ekstrak daun turi merah |
| Kelompok Perlakuan (P1) | : Mencit nifas yang diinjeksi <i>Streptococcus agalactiae</i> dan diberikan ekstrak daun turi merah dosis 125 mg/kgBB/hari secara oral                               |
| Kelompok Perlakuan (P2) | : Mencit nifas yang diinjeksi <i>Streptococcus agalactiae</i> dan diberikan ekstrak daun turi merah dosis 250 mg/kgBB/hari secara oral                               |
| Kelompok Perlakuan (P3) | : Mencit nifas yang diinjeksi <i>Streptococcus agalactiae</i> dan diberikan ekstrak daun turi merah dosis 500 mg/kgBB/hari secara oral                               |

#### 4.4 Variabel Penelitian

Pada penelitian ini variabel yang diamati meliputi variabel *Independent*/bebas dan variabel *dependent*/terikat :



1. Variabel *independent* / bebas : pemberian ekstrak daun turi merah (*Sesbania grandiflora* L.Pers) dengan dosis yang berbeda pada *Mus musculus* nifas yang diinjeksi *Streptococcus agalactiae*.
2. Variabel *dependent* / terikat : Kadar TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  dan jumlah koloni bakteri pada ginjal *Mus musculus* nifas yang diinjeksi *Streptococcus agalactiae*.

## 4.5 Definisi Operasional

### 4.5.1 Mencit model infeksi nifas

Mencit model infeksi nifas merupakan mencit (*Mus musculus*) yang diinjeksi *Streptococcus agalactiae* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Rumah Sakit Saiful Anwar Malang dengan dosis  $5 \times 10^3$  CFU/mL sebanyak 0,2 ml secara intravaginal. Pemberian bakteri *Streptococcus agalactiae* dilakukan dengan menggunakan spuit 1 ml sebanyak 1 kali pada 0 sampai dengan 12 jam *postpartum* atau segera setelah melahirkan.

Pemberian dosis bakteri *Streptococcus agalactiae*  $5 \times 10^3$  CFU/mL didasarkan dari hasil studi pendahuluan dan penelitian Rosati *et al.* (1998). Berdasarkan hasil penelitian Rosati *et al.* (1998) menemukan bahwa pemberian bakteri Streptokokus grup B pada mencit dengan dosis  $5 \times 10^3$  CFU/ml secara intraperitoneal mampu mengkolonisasi semua organ seperti *peritoneum*, darah, *spleen*, hati, paru-paru, dan ginjal dalam waktu 2 jam dan 12 jam. Sedangkan dalam waktu 24 jam dan 36 jam sudah mampu mengkolonisasi semua organ termasuk otak. Selanjutnya berdasarkan hasil studi pendahuluan yang dilakukan pada tanggal 5 April sampai 19 April 2016 pada mencit nifas yang di injeksi bakteri *Streptococcus agalactiae* dengan dosis  $5 \times 10^3$ ,  $5 \times 10^4$ ,  $5 \times 10^5$  CFU/mL secara Intravaginal dan Intraperitoneal dilakukan pemeriksaan darah lengkap untuk melihat jumlah leukosit. Dari hasil studi pendahuluan di dapatkan bahwa pemberian *Streptococcus agalactiae* secara intravaginal lebih menginfeksi

dibandingkan dengan pemberian secara intraperitoneal yang terlihat dari peningkatan jumlah leukosit (hasil terlampir).

#### **4.5.2 Ekstrak daun turi merah (*Sesbania grandiflora* L. Pers)**

Ekstraksi daun turi merah (*Sesbania grandiflora* L.Pers) diperoleh dari Desa Balongbesok Kecamatan Diwek Kabupaten Jombang dan diproses dengan metode maserasi dan evaporasi dengan pelarut etanol 96% di laboratorium hama dan penyakit tanaman (HPT) fakultas pertanian Universitas Brawijaya Malang. Ekstrak daun turi merah diberikan secara oral pada mencit nifas dengan menggunakan sonde setiap hari yang dimulai setelah 2 jam pemberian bakteri *Streptococcus agalactiae* dengan dosis 125 mg/kgBB/hari pada kelompok perlakuan pertama, 250 mg/kgBB/hari pada kelompok perlakuan kedua, 500 mg/kgBB/hari pada kelompok perlakuan ketiga, masing-masing dosis diberikan sebanyak 1 x/hari.

#### **4.5.3 Kadar TNF- $\alpha$**

Kadar TNF- $\alpha$  adalah pengamatan kadar TNF- $\alpha$  yang terekspresi dari plasma darah mencit baik pada kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan yang diperoleh setelah terminasi mencit *postpartum* 24 jam yang diukur dengan menggunakan metode ELISA.

#### **4.5.4 Kadar IL-1 $\beta$**

Kadar IL-1 $\beta$  adalah pengamatan kadar IL-1 $\beta$  yang terekspresi dari plasma darah mencit baik pada kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan yang diperoleh setelah terminasi mencit *postpartum* 24 jam yang diukur dengan menggunakan metode ELISA.

#### **4.5.5 Jumlah koloni bakteri *Streptococcus agalactiae***

Jumlah koloni bakteri *Streptococcus agalactiae* dihitung dari perubahan jumlah koloni bakteri *Streptococcus agalactiae* pada organ ginjal mencit baik pada kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan yang diperoleh setelah terminasi mencit *postpartum* 24 jam dengan menggunakan metode kultur.

### **4.6 Bahan dan Alat Penelitian**

#### **4.6.1 Bakteri *Streptococcus agalactiae***

Bakteri *Streptococcus agalactiae* merupakan stock strain dari Laboratorium Mikrobiologi Rumah Sakit Saiful Anwar Malang yang telah diidentifikasi pada tanggal 21 Juli 2016

#### **4.6.2 Hewan Coba**

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit bunting hari ke-14 dengan kondisi sehat dan bebas dari penyakit. Mencit didapatkan dari Laboratorium Biologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim, mencit dipelihara dan diletakkan dalam kandang berukuran 30 x 40 x 20 cm sebanyak 4 kandang, masing-masing kandang berisi 7 ekor mencit bunting.

#### **4.6.3 Ekstrak Daun Turi Merah (*Sesbania grandiflora* L.Pers)**

Alat : Toples untuk wadah, timbangan, kertas saring, aluminium foil, stiker, corong gelas, oven, blender, gelas erlenmeyer, labu penampung etanol, evaporator, pendingin spiral/rotary evaporator, selang water pump, water pump, water bath, vacuum pump

Bahan : Daun turi merah di dapatkan dari Kabupaten Jombang sebanyak 900.21 gram dan pelarut ekstraksi yaitu etanol 96% sebanyak 800 ml.

#### 4.6.4 Pemeriksaan Jumlah Koloni Bakteri *Streptococcus agalactiae*

Autoclave, alat penghitung koloni, botol pengencer 20 ml, cawan petri 15 mm x 90 mm, gelas ukur 250 ml, gelas preparat, incubator (35±1)<sup>0</sup>C, pipet gelas atau pipetor 0.1 ml dan 1 ml, pipet pasteur, ose lengkung. Sedangkan untuk media dan pereaksinya menggunakan *Brain Heart Infusion Broth* (B.2), *Coagulase plasma* (Rabbit) dengan EDTA, larutan *butterfield's phosphatase buffered* (C.1), pereaksi katalase (3% $\text{H}_2\text{O}_2$ ) (C.2), pereaksi pewarnaan gram (C.3), Kit microbact system.

#### 4.6.5 Pemeriksaan Kadar TNF- $\alpha$ dan IL-1 $\beta$

TNF- $\alpha$  dan IL-1 $\beta$  *microplate* yang terdiri atas 96 sumur (8 lempeng masing-masing berisi 12 sumur) berlapis antibody monoclonal terhadap TNF- $\alpha$  dan IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  dan IL-1 $\beta$  *conjugate* yaitu antibody poliklonal terhadap TNF- $\alpha$  dan IL-1 $\beta$  yang telah dilabel dengan enzim fosfatase alkali, *standard* TNF- $\alpha$  dan IL-1 $\beta$  mengandung TNF- $\alpha$  dan IL-1 $\beta$  manusia rekombinan, *Assay diluents*, Diluen untuk kalibrator, Buffer pencuci, Substrat yang mengandung TMBC tetrametil, Diluen untuk substrat, Benzidine, *stop solution* (2N asam sulfat), Penutup lempeng.

#### 4.6.6 Pembedahan Hewan Coba

Alat : *Minor surgery set*, spuit 1 cc, *plain vacutainer*, ependorf, Laminaria

Bahan : Alkohol spray 70% dan Chloroform, tissue

### 4.7 Prosedur Penelitian

#### 4.7.1 Aklimatisasi

Aklimatisasi (penyesuaian lingkungan) bagi mencit dilakukan selama 3 hari di Laboratorim Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

Malang. Pada waktu aklimatisasi ini, mencit hanya diberi makan dan minum standar laboratorium.

#### **4.7.2 Pemeliharaan Hewan Coba**

Pemeliharaan hewan coba dilakukan di Laboratorium Parasitologi Universitas Brawijaya Malang, hewan coba diadaptasi dengan kondisi suhu lingkungan yang stabil dan baik. Masa aklimatisasi dilakukan selama tiga hari supaya mencit menyesuaikan diri dengan lingkungan baru. mencit dipelihara di kandang dengan ukuran 20 cm x 30 cm x 40 cm berupa box plastik sebanyak 4 buah diberi sekam sebagai alas dan ditutup dengan kawat berjaring, masing-masing kandang diisi 7 mencit. Dilakukan penggantian alas sekam setiap 3 hari sekali pada pagi hari. Cahaya ruangan dikontrol 12 jam terang (jam 06.00 s/d 18.00 Wib) dan 12 jam gelap (pukul 18.00 s/d 06.00 wib), sedangkan temperatur dan kelembapan ruangan dibiarkan berada pada kisaran suhu antar 27-28<sup>0</sup>C.

Mencit diberi makan dan minum *ad libitum*, berupa pakan standar setiap hari. Minum (air matang) diletakkan di dalam botol khusus dengan kebutuhan per-hari 150 ml per ekor. Mencit diperi pakan berbentuk pellet (bulat) dengan komposisi terdiri dari jagung, bungkil, dedak, kapur, tepung, minyak, metionin, lisin, garam, vitamin dan mineral. Pakan pada saat diberikan sebelumnya dicampur merata dengan air sehingga konsentrasinya tidak keras, pakan standar diberikan 50 gr/hari pada semua kelompok selama masa penelitian (masa aklimitasi maupun masa perlakuan) di Laboratorium Parasitologi Universitas Brawijaya

#### 4.7.3 Penyiapan Preparat Bakteri *Streptococcus agalactiae*

1. Bakteri *Streptococcus agalactiae* merupakan stock strain dari Laboratorium Rumah Sakit Saiful Anwar Malang telah diidentifikasi pada tanggal 21 Juli 2016
2. Bakteri *Streptococcus agalactiae* dikultur pada *Brain Heart Infussion Broth* (BHIB) selama 18-24 jam dan diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C sebelum paparan
3. Setelah 24 jam dilakukan pengamatan secara subyektif dan apabila bakteri tumbuh, maka dilakukan pengukuran dengan metode spektrofotometri dengan panjang gelombang 625 nm untuk mengetahui kepadatan bakteri atau dengan nilai absorpsi *Optical Density* (OD) yang diinginkan.
4. Setelah dilakukan pembuatan isolat bakteri yang disesuaikan dengan standar *Mc Farland* 0,5 dan dilakukan pengenceran sebanyak 2 kali untuk memperoleh konsentrasi  $5 \times 10^3$  CFU/ml dengan cara :
  - a. Diambil 5 ml dari 10 ml larutan bakteri dengan konsentrasi  $10^5$  CFU/ml dan dimasukkan kedalam tabung yang telah diisi 9 ml *Nutrient Broth*, kemudian dilakukan homogenasi dengan cara di vortex pada tiap tingkatan yang diencerkan, sehingga konsentrasi bakteri menjadi  $10^4$  CFU/ml.
  - b. Diambil 5 ml dari larutan dengan konsentrasi bakteri  $10^4$  CFU/ml tersebut dan dimasukkan ke dalam tabung yang telah diisi 9 ml *Nutrient Broth*, kemudian dilakukan homogenasi dengan cara di vortex pada tiap tingkatan yang diencerkan, sehingga konsentrasi bakteri menjadi  $10^3$  CFU/ml.
  - c. Konsentrasi bakteri  $10^3$  CFU/ml tersebut yang digunakan dalam penelitian ini.

5. Masing-masing mencit mendapatkan bakteri *Streptococcus agalactiae* secara intravaginal sebesar 0,2 ml dari  $5 \times 10^3$  CFU/ml

#### 4.7.4 Pembuatan Mencit Model Infeksi Nifas

Model mencit infeksi nifas dibuat berdasarkan metode yang dilakukan pada studi pendahuluan dan penelitian sebelumnya oleh Rosati *et al.* (1998) yaitu :

1. Seluruh hewan coba yang digunakan diambil dari Laboratorium Biologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Propinsi Jawa Timur
2. Hewan Coba yang digunakan adalah mencit bunting (*Mus musculus*) dengan usia kebuntingan 14 hari dengan berat 30-40 gram yang dipilih berdasarkan kriteria inklusi dan eksklusi
3. Setelah adaptasi pada kandang yang sama serta mendapatkan makanan dan minuman yang sama selama 3 hari, dilakukan seleksi ulang apakah mencit ada yang masuk kriteria eksklusi atau tidak
4. Dilakukan randomisasi mencit menjadi 4 kelompok, dimana masing-masing kelompok terdiri dari kelompok kontrol (K), Kelompok perlakuan (P1, P2 dan P3).
5. Pada mencit nifas dilakukan penyuntikan *Streptococcus agalactiae* segera setelah melahirkan (0 s/d 12 jam *postpartum*) pada mencit kelompok kontrol dan kelompok perlakuan dengan dosis  $5 \times 10^3$  CFU/ml sebanyak 0.2 ml secara intravaginal. Sediaan bakteri *Streptococcus agalactiae* di dapatkan dari Laboratorium Mikrobiologi Rumah Sakit Saiful Anwar Malang.
6. Kemudian ditunggu sampai 2 jam setelah pemberian bakteri *Streptococcus agalactiae* untuk menjadi mencit model infeksi nifas. Mencit infeksi nifas ditandai dengan peningkatan leukosit pada pemeriksaan darah lengkap (DL) setelah pemberian bakteri *Streptococcus agalactiae*.

#### **4.7.5 Prosedur pembuatan ekstrak daun turi merah dengan metode maserasi dan evaporasi**

Prosedur pembuatan ekstrak daun turi merah terdiri dari proses pengeringan, proses ekstraksi, dan proses evaporasi, yang dijelaskan sebagai berikut :

1. Proses pengeringan. Proses pengeringan dimulai dari mencuci bersih 900 gram daun turi merah, potong kecil-kecil, masukan oven dengan suhu 40-60 °C selama  $\pm 48$  jam (bebas dari kandungan air)
2. Proses ekstraksi. Proses ekstraksi dimulai dengan daun turi merah yang sudah kering diblender sampai halus. Selanjutnya menimbang serbuk daun turi merah dan masukkan kedalam gelas erlenmeyer menggunakan corong gelas, rendam dalam pelarut etanol 96% dan kocok sampai tercampur ( $\pm 10$  menit), kemudian di tutup dan diletakkan pada shaker dengan kecepatan 120 rpm selama 24 jam. Ambil lapisan atas campuran etanol (pelarut) dengan zat aktif yang sudah tercampur dengan menggunakan kertas saring. Kemudian disimpan di dalam lemari pendingin dengan suhu 10 °C.
3. Proses evaporasi. Proses evaporasi dimulai dengan memasukkan hasil rendaman daun turi merah ke dalam labu evaporasi 1 liter, pasang labu evaporasi pada evaporator, isi water bath dengan air sampai penuh, pasang semua rangkaian alat termasuk evaporator, pemanasan dengan *water bath* pada 40 °C (sesuai dengan titik didih pelarut etanol), sambungkan dengan aliran listrik, biarkan larutan etanol memisah dengan zat aktif yang sudah ada dalam labu evaporator, tunggu sampai larutan etanol berhenti menetes pada labu penampung ( $\pm 1.5$  sampai 2 jam untuk satu labu), hasil yang diperoleh yang berbentuk pasta selanjutnya dimasukkan ke dalam botol kaca dan simpan di dalam freezer dengan suhu 4°C



4. Hasil ekstrak daun turi merah diberikan pada mencit secara oral dengan menggunakan spuit 1 ml yang ujungnya telah dipasang sonde (platina) sesuai dosis perlakuan.

#### **4.7.6 Penimbangan Berat Badan Mencit**

Berat badan mencit ditimbang setiap hari dengan menggunakan neraca ohaus. Langkah-langkah penimbangan yaitu :

1. Siapkan timbangan, mencit dan lembar observasi terlebih dahulu
2. Mencit yang akan ditimbang dikeluarkan dari kandangnya kemudian ditempatkan di neraca Ohaus, tunggu beberapa detik sampai hasilnya keluar, kemudian baca hasil dan catat pada lembar observasi.
3. Setelah itu mencit dikembalikan kedalam kandang secara perlahan dan hati-hati.

#### **4.7.7 Prosedur Pemberian Ekstrak Daun Turi Merah pada Hewan Coba**

Pemberian ekstrak daun turi merah dilakukan pada mencit nifas setelah 2 jam pemberian bakteri *Streptococcus agalactiae*. Mencit diberikan ekstrak daun turi merah setiap 1 x/hari dengan dosis berbeda-beda yaitu 125 mg/kgBB/hari, 250 mg/kgBB/hari, 500 mg/kgBB/hari secara oral menggunakan spuit 1 mL yang ujungnya telah dipasang sonde (platina). Sebelum diberikan, ekstrak daun turi merah dilarutkan terlebih dahulu dengan aquadest.

Prosedur pemberian ekstrak daun turi merah (*Sesbania grandiflora* L.Pers) yaitu :

1. Diberikan selama 1 hari yang dimulai setelah 2 jam pemberian bakteri *Streptococcus agalactiae*
2. Menimbang berat badan mencit (*Mus musculus*) sebelum pemberian ekstrak.

3. Menghitung dosis masing-masing mencit untuk pemberian selama 1 hari.

Rumus yang digunakan adalah sebagai berikut :

$$\frac{BB (g)}{1000 (g)} \times \text{Dosis yang ditentukan}$$

4. Mengencerkan hasil ekstrak daun turi merah (*Sesbania grandiflora L.Pers*), dengan menggunakan rumus sebagai berikut :

- a. Pengenceran ekstrak daun turi merah menggunakan rumus sebagai berikut :

$$V1.N1 = V2.N2$$

Keterangan : V1 = Volume larutan ekstrak yang diambil (ml)

N1 = Konsentrasi ekstrak yang diambil (mg/ml)

V2 = Volume larutan yang akan dibuat (ml)

N2 = Konsentrasi larutan yang akan dibuat (mg/ml)

**Dosis 1** → 125 mg/kgBB/hr, BB mencit yang diperoleh = 25 gram; konsentrasi ekstrak daun turi merah (*Sesbania grandiflora L.Pers*) yang tersedia (larutan stok) 53,88 gram. Volume yang diinginkan sebanyak 100 ml untuk 1 kelompok, konsentrasi yang sesuai dosis adalah :

$$\frac{25 \text{ gram}}{1000 \text{ gram}} \times 125 = 3,1 \text{ mg}$$

$$N1. V1 = N2. V2$$

$$53,88 \times V1 = 3,1 \text{ mg} \times 100 \text{ ml}$$

$$V1 = 310 : 53,88$$

$$V1 = 5,75 \text{ ml}$$

Jadi, **5,75 ml** ekstrak daun turi merah dari larutan stok, ditambah **94,25 ml** aquadest, dan diberikan pada mencit (*Mus musculus*) dosis 1 (1 cc/hari)

**Dosis 2** → 250 mg/kgBB/hr, BB mencit yang diperoleh = 25 gram; konsentrasi ekstrak daun turi merah (*Sesbania grandiflora L.Pers*) yang tersedia

(larutan stok) 53,88 gram. Volume yang diinginkan sebanyak 100 ml untuk 1 kelompok, konsentrasi yang sesuai dosis adalah :

$$\frac{25 \text{ gram}}{1000 \text{ gram}} \times 250 = 6,25 \text{ mg}$$

$$N1. V1 = N2.V2$$

$$53,88 \times V1 = 6,25 \times 100$$

$$V1 = 625 : 53,88$$

$$V1 = 11,6 \text{ ml}$$

Jadi, **11,6 ml** ekstrak daun turi merah dari larutan stok, ditambah **88,4 ml** aquadest, dan diberikan pada mencit (*Mus musculus*) dosis 1 (1 cc/hari)

**Dosis 3** → 500 mg/kgBB/hr, BB mencit yang diperoleh = 25 gram; konsentrasi ekstrak daun turi merah (*Sesbania grandiflora* L.Pers) yang tersedia (larutan stok) 53,88 gram. Volume yang diinginkan sebanyak 100 ml untuk 1 kelompok, konsentrasi yang sesuai dosis adalah :

$$\frac{25 \text{ gram}}{1000 \text{ gram}} \times 500 = 12,5 \text{ mg}$$

$$N1. V1 = N2.V2$$

$$53,88 \times V1 = 12,5 \times 100$$

$$V1 = 1250 : 53,88$$

$$V1 = 23,2 \text{ ml}$$

Jadi, **23,2 ml** ekstrak daun turi merah dari larutan stok, ditambah **76,8 ml** aquadest, dan diberikan pada mencit (*Mus musculus*) dosis 1 (1 cc/hari)

- b. Masukkan hasil pengenceran ke dalam 3 botol (3 kelompok perlakuan), satu botol untuk satu kelompok perlakuan sesuai dengan dosis masing-masing.
- c. Simpan botol ekstrak daun turi merah di dalam kulkas.

Langkah-langkah pemberian ekstrak daun turi merah adalah sebagai berikut :

1. Ekstrak daun turi merah dimasukkan ke dalam spuit 1 ml yang ujungnya telah dipasang sonde
2. Pemberian ekstrak daun turi merah dilakukan dengan dosis sesuai kelompok perlakuan yaitu P1, P2, dan P3 dan banyaknya pemberian yaitu 1 x/hari.
3. Pegang bagian tengkuk mencit betina dengan perlahan dan berhati-hati
4. Sonde dimasukkan ke dalam mulut mencit betina melalui langit-langit perlahan-perlahan sampai ke faring lalu ke esophagus
5. Mendorong ekstrak daun turi merah yang ada dalam spuit ke esophagus sehingga dapat mencapai lambung
6. Setelah pemberian ekstrak daun turi merah, mencit dilepaskan dengan mengembalikannya ke dalam kandang secara perlahan dan hati-hati.

#### **4.7.8 Konversi Dosis Mencit Ke Manusia**

Menurut Bacharach & Laurence (1964) dalam Kurniawan (2011) dosis mencit ke manusia dikalikan 387,9 yaitu :

1. Dosis I (125 mg/kgBB) =  $125 \text{ mg} \times (25 : 1000) \times 387,9 = 1,212 \text{ mg}$  (1,2 ml)
2. Dosis II (250 mg/kgBB) =  $250 \text{ mg} \times (25 : 1000) \times 387,9 = 2,424 \text{ mg}$  (2,4 ml)
3. Dosis III (500 mg/kgBB) =  $500 \text{ mg} \times (25 : 1000) \times 387,9 = 4,848 \text{ mg}$  (4,8 ml)

#### **4.7.9 Prosedur Pembedahan Hewan Coba.**

Pembedahan mencit dilakukan pada 24 jam *postpartum*, proses eksekusi menggunakan Chloroform. Setelah mencit tidak bergerak segera letakkan pada meja bedah dengan posisi mencit terlentang yaitu bagian perut di atas. Perut mencit disterilisasi dengan menggunakan alkohol spray 70% dan dibedah dengan menggunakan *minor surgery set* di dalam laminaria. Pembedahan mulai

dari bagian perut, kemudian darah mencit diambil langsung dari jantung kanan dengan menggunakan spuit 1 cc. Kemudian dilanjutkan dengan pengambilan organ ginjal untuk menghitung jumlah koloni bakteri. Organ ginjal dimasukkan dalam ependorf yang berisi cairan NaCL. Selanjutnya sampel darah didiamkan selama 2 jam kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 2500 rpm selama 15 menit. Plasma darah yang telah terpisah diambil dengan menggunakan mikropipet dan masukkan ke dalam ependorf. Plasma darah disimpan dalam suhu  $-40^{\circ}\text{C}$  sampai siap untuk digunakan.

#### **4.7.10 Pemeriksaan Kadar TNF- $\alpha$ dan IL-1 $\beta$**

##### **1. Prinsip**

Kadar TNF- $\alpha$  dan IL-1 $\beta$  dapat diukur dengan metode ELISA *kit Mouse* TNF- $\alpha$  dan IL-1 $\beta$ . Secara keseluruhan prosedur pengukuran kadar TNF- $\alpha$  dilakukan berdasarkan metode standar dari *Biolegend* (No.Cat 430907) dan pengukuran kadar IL-1 $\beta$  dilakukan berdasarkan standar dari *Bioassay Technology Laboratory* (E0192Mo). Prinsip pemeriksaan ini adalah TNF- $\alpha$  dan IL-1 $\beta$  yang terkandung dalam bahan yang diperiksa direaksikan dengan antibodi monoklonal terhadap TNF- $\alpha$  dan IL-1 $\beta$ . Antibodi ini telah dimobilisasi pada plastik *microplate*. Ikatan antara TNF- $\alpha$  dan IL-1 $\beta$  dengan anti TNF- $\alpha$  dan IL-1 $\beta$  dilacak dengan antibodi poliklonal terhadap TNF- $\alpha$  dan IL-1 $\beta$  yang telah diberi label dengan enzim. Dengan menambahkan substrat yang sesuai, akan terbentuk warna yang intensitasnya dapat diukur menggunakan elisa reader. Intensitas warna yang muncul sesuai dengan jumlah TNF- $\alpha$  dan IL-1 $\beta$ .

## 2. Cara kerja

### 1) Cara kerja TNF- $\alpha$

Reagen disiapkan sesuai dengan prosedur dari pabrik kit (*Biolegend*) untuk TNF- $\alpha$ . Sebanyak 50  $\mu$ L larutan standar dan 50  $\mu$ L *Matrik A* dimasukkan ke dalam sumur yang akan diisi standar. Tambahkan 50  $\mu$ L sampel yang diperiksa dan 50  $\mu$ L *Assay buffer A* pada setiap sumur yang akan diisi sampel. Lempeng ditutup dengan penutup, kemudian diinkubasi selama 2 jam pada suhu kamar dengan di shaker 200 rpm. Dilakukan pencucian : (a) cairan dari dalam sumur dibuang; (b) sisa cairan dikeringkan dengan membalikkan dan menekan permukaan lempeng di atas kertas *tissue*; (3) diisi 300  $\mu$ L larutan buffer pencuci ke dalam sumur; (d) buffer pencuci dibuang; (e) prosedur butir b-d diulangi sebanyak 4 kali; (f) ditambahkan 100  $\mu$ L *mouse TNF- $\alpha$  detection antibody solution* ke dalam tiap sumur, kemudian ditutup dan diinkubasi selama 1 jam pada suhu kamar dengan dishaker 200 rpm. Dilakukan pencucian seperti butir 4. Ditambahkan 100  $\mu$ L *Avidin HRPB solution*, kemudian ditutup dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu kamar dengan dishaker 200 rpm. Tambahkan 100  $\mu$ L *Substrat solution E* pada setiap sumur dan inkubasi selama 15 menit pada tempat gelap tanpa tutup. Selanjutnya ditambahkan 100  $\mu$ L *stop solution*. Densitas optik (OD) sudah harus diukur dalam waktu 30 menit menggunakan *elisa reader* (Biorad 520 dengan panjang gelombang 450 nm).

### 2) Cara kerja IL-1 $\beta$

Reagen disiapkan sesuai dengan prosedur dari pabrik kit *Bioassay Technology Laboratory* (BT) untuk IL-1 $\beta$ . Sebanyak 50  $\mu$ L larutan standar dan 50  $\mu$ L *Streptavidin-HRP* dimasukkan ke dalam tiap sumur,

selanjutnya ditambahkan 40  $\mu$ L sampel yang diperiksa, 10  $\mu$ L antibodi IL-1 $\beta$  dan 50  $\mu$ L *Streptavidin-HRP*. Lempeng ditutup dengan penutup, kemudian diinkubasi selama 1 jam pada suhu kamar. Dilakukan pencucian : (a) cairan dari dalam sumur dibuang; (b) sisa cairan dikeringkan dengan membalikkan dan menekan permukaan lempeng di atas kertas *tissue*; (3) diisi 300  $\mu$ L larutan buffer pencuci ke dalam sumur; (d) buffer pencuci dibuang; (e) prosedur butir b-d diulangi sebanyak 3 kali; (f) ditambahkan 50  $\mu$ L *chromogen solution A* dan *Chromogen solution B* ke dalam tiap sumur, kemudian ditutup dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu kamar. Dilakukan pencucian seperti butir 4. Kemudian ditambahkan 50  $\mu$ L *stop solution*. Densitas optik (OD) sudah harus diukur dalam waktu 10 menit menggunakan *Elisa Reader* (Biorad 520 dengan panjang gelombang 450 nm).

#### **4.7.11 Pemeriksaan Jumlah Koloni Bakteri *Streptococcus agalactiae* pada Organ Ginjal Mencit**

Pemeriksaan dilakukan dengan metode cawan hitung (*Plate Count*) agar sebar. Dengan langkah-langkah pemeriksaan sebagai berikut :

1. Sampel bakteri *Streptococcus agalactiae* diambil dari organ ginjal mencit nifas. Prinsip dari metode cawan hitung (*Plate Count*) agar sebar yaitu dengan cara menyiapkan terlebih dahulu 4 tabung yang berisi larutan garam fisiologis 0,1% dan pepton 0,1% sebanyak 9 ml (*Alkali Pepton Water*) dan masing-masing diberikan label  $P^{-2}$  sampai dengan  $P^{-5}$ . Selanjutnya siapkan 5 cawan petri steril dan diberikan label  $P^{-1}$  sampai dengan  $P^{-5}$ .
2. Sampel organ ginjal mencit ditimbang sebanyak 1 gram dan dihancurkan. Sampel ginjal yang telah dihancurkan dimasukkan ke dalam larutan pengencer garam fisiologis 0,85% sebanyak 9 ml (*Alkali Pepton Water*).

Sampel 10% tersebut dianggap sebagai *Working Dilution*. Selanjutnya sampel dipipet sebanyak 1 ml dan dimasukkan kedalam tabung yang berlabel P-2, selanjutnya di vortek dan diambil 1 ml dimasukkan ke dalam tabung berlabel P-3, dan seterusnya sampai pengenceran terakhir. Setelah diperoleh seri pengenceran  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$  dan seterusnya, masing-masing dipipet 1 ml dan dimasukkan ke dalam cawan petri steril sesuai dengan labelnya.

3. Selanjutnya medium *Plate Count Agar* steril 15 ml dengan suhu 40-50 °C (hangat-hangat kuku) dituangkan kedalam cawan petri. Cawan Petri yang telah berisi sampel 1 ml dan medium *Plate Count Agar* steril 15 ml dicampur dengan cara mengoyang goyangkan diatas meja dengan memutar searah jarum jam atau melingkar formasi 8. Selanjutnya sampel dibiarkan bercampur dan mengeras bersama agar *Plate Count Agar* steril. Jika sampel sudah mengeras diinkubasi pada suhu 37<sup>0C</sup> selama 2 x 24 jam.
4. Jika sudah tampak adanya pertumbuhan bakteri, selanjutnya dilakukan pewarnaan gram dan perhitungan koloni dengan *Colony Counter*, Serta uji koagulase dan uji tambahan menggunakan media *Blood agar plate* (BAP). Namun jika tidak ditemukan adanya koloni bakteri *Streptococcus agalactiae* tahap ini tidak dilakukan. Untuk menghindari adanya kontaminasi, maka pemeriksaan dilakukan secara aseptis di dalam *Laminer Flow*.
5. Koloni *Streptococcus agalactiae* pada agar *Plate Count Agar* mempunyai ciri-ciri : koloni bulat (*coccus*), berukuran kecil licin/halus, cembung, berantai, diameter 0,5-1 mm, warna putih kekuningan dikarenakan bakteri mampu memfermentasikan bahan dalam media, pinggiran rata.

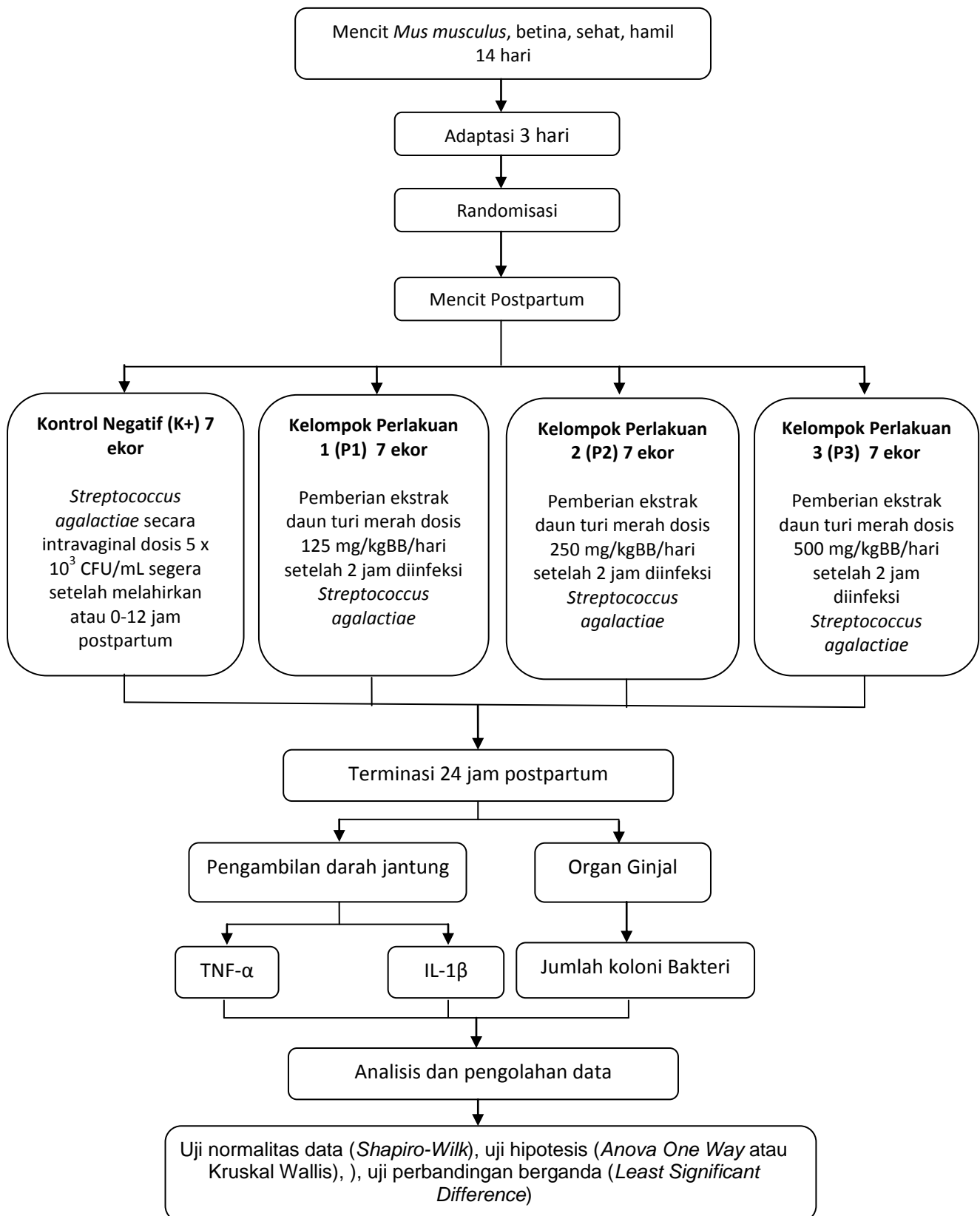


#### **4.7.12 Pemeriksaan Koloni Bakteri *Streptococcus agalactiae* dalam Darah Mencit**

Pemeriksaan koloni bakteri *Streptococcus agalactiae* dalam darah mencit nifas dilakukan secara kualitatif dengan metode kultur menggunakan alat BACTEC 9050, dengan langkah-langkah pemeriksaan sebagai berikut:

1. Sampel darah pada spuit dimasukkan kedalam botol pembenihan yang berisi media penyubur dan resin (penetrant antibiotik), campur hingga homogen. Volume darah yang dibutuhkan 1-3 ml
2. Selanjutnya inkubasi pada suhu 35<sup>0</sup>C. Pemeriksaan dengan alat BACTEC 9050 dibutuhkan waktu 2 jam untuk alat memberikan tanda berupa alarm pada sampel yang positif. Namun jika sampel belum memberikan tanda-tanda positif maka diberi selang pemeriksaan atau tunggu hasilnya maksimal hingga 5 hari. Hasil negatif akan ditunjukkan pada alat berupa kode sampel (-) pada alat.
3. Memproses kultur darah (+) yaitu :
  - a. Buat sediaan dari kultur darah (+) dan lakukan pewarnaan Gram
  - b. Lakukan subkultur pada media MC dan BAP
4. Memproses kultur darah (-) yaitu : media dikeluarkan dari alat dan dicatat kode sampel negatif, kemudian media dibuang tanpa proses lebih lanjut.

#### 4.8 Alur Penelitian



Gambar 4.1 Bagan Alur Penelitian

#### 4.9 Teknik Analisis Data

Data yang didapatkan diuji homogenitas dan normalitas. Pengujian asumsi normalitas dilakukan dengan menggunakan *Shapiro-Wilk test*. Sedangkan pengujian asumsi homogenitas ragam dilakukan dengan menggunakan *Levene test*. Data yang terdistribusi normal dan homogen akan dianalisa secara statistik parametrik yaitu uji *Anova One Way*, dan apabila terdapat perbedaan signifikan akan diuji lanjut dengan uji perbandingan berganda LSD dengan taraf kepercayaan 95% ( $\alpha=0.05$ ). sedangkan data non-parametrik akan dianalisis secara statistik yaitu uji *Kruskal Willis*. Data yang memiliki perbedaan signifikan untuk setiap perlakuan akan kemudian diuji lanjut dengan IRI-RJI 5%. Selanjutnya semua penghitungan dilakukan dengan bantuan piranti lunak (*Software*) *SPSS for Windows 22*.

## BAB 5

### HASIL PENELITIAN DAN ANALISA DATA

#### 5.1. Gambaran Umum Hasil Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Parasitologi, Laboratorium Mikrobiologi, Laboratorium Fisiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang dan Rumah Sakit Saiful Anwar Malang pada bulan Juli sampai dengan Agustus 2016. Penelitian dilaksanakan secara eksperimental murni dengan metode *post test only control group design* yang dikerjakan di laboratorium secara *In vivo* tentang pengaruh pemberian ekstrak daun turi merah (*Sesbania grandiflora* L. Pers) terhadap penurunan kadar TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  dan jumlah koloni bakteri pada ginjal *Mus musculus* nifas yang diinfeksi *Streptococcus agalactiae*. Penelitian ini menggunakan hewan coba mencit (*Mus musculus*) galur Balb/c nifas. Hewan coba tersebut didapatkan dari Laboratorium Bio Teknologi Universitas Islam Negeri Malang.

Perawatan mencit dilakukan di Laboratorium Parasitologi kurang lebih 3 minggu hingga penelitian selesai. Setelah mencit hamil usia 14 hari datang, mencit akan mengalami masa adaptasi selama 3 hari. Pada saat mencit *postpartum* 0 s/d 12 jam atau segera setelah melahirkan, mencit diinjeksi bakteri *Streptococcus agalactiae* dengan dosis  $5 \times 10^3$  CFU/mL sebanyak 0,2 ml secara intravaginal sebanyak 1 kali untuk membuat mencit model infeksi nifas. Mencit yang digunakan dalam penelitian ini berjumlah 24 ekor. Mencit dibagi menjadi 4 kelompok, masing-masing kelompok berjumlah 6 ekor. Kelompok mencit terdiri dari kontrol yaitu kelompok mencit yang diberikan injeksi *Streptococcus agalactiae* dengan dosis  $5 \times 10^3$  CFU/mL sebanyak 0,2 ml secara intravaginal, kelompok perlakuan 1 yaitu kelompok mencit yang diberikan injeksi *Streptococcus agalactiae* dan ekstrak daun turi merah dengan dosis 125

mg/kg/BB, kelompok perlakuan 2 yaitu kelompok mencit yang diberikan injeksi *Streptococcus agalactiae* dan ekstrak daun turi merah dengan dosis 250 mg/kg/BB, dan kelompok perlakuan 3 yaitu kelompok mencit yang diberikan injeksi *Streptococcus agalactiae* dan ekstrak daun turi merah dengan dosis 500 mg/kg/BB. Adapun karakteristik dasar model mencit infeksi nifas antara lain sebagai berikut :

**Tabel 5.1 Karakteristik mencit model infeksi nifas 24 jam berdasarkan jumlah Leukosit ( $10^3/\mu\text{l}$ )**

Sampel	Kelompok				Nilai Normal
	Kontrol	P1 (S.A + turi 125 mg/kgBB)	P2 (S.A + turi 250 mg/kgBB)	P3 (S.A + turi 500 mg/kgBB)	
1	14,50	9,50	8,90	6,20	$8,4 \times 10^3/\mu\text{l}$
2	16,40	10,90	5,90	7,60	
3	11,40	10,50	5,60	6,00	
4	12,70	10,50	10,10	7,90	
5	12,00	10,80	6,30	6,20	
6	13,70	10,60	10,30	8,80	
Rata-rata $\pm$ SD	13,45 $\pm$ 1,83	10,47 $\pm$ 0,50	7,85 $\pm$ 2,16	7,10 $\pm$ 1,17	

Keterangan :

K : Kelompok kontrol yang diinjeksi *Streptococcus agalactiae* dengan dosis  $5 \times 10^3$  CFU/mL secara intravaginal

P1: Kelompok perlakuan injeksi *Streptococcus agalactiae* + pemberian ekstrak daun turi merah dosis 125 mg/kgBB

P2 : Kelompok perlakuan injeksi *Streptococcus agalactiae* + pemberian ekstrak daun turi merah dosis 250 mg/kgBB

P3 : Kelompok perlakuan injeksi *Streptococcus agalactiae* + pemberian ekstrak daun turi merah dosis 500 mg/kgBB

Pada Tabel 5.1 didapatkan mencit nifas kelompok kontrol yang diberi injeksi *Streptococcus agalactiae* pada 0 s/d 12 postpartum atau segera setelah melahirkan dengan dosis  $5 \times 10^3$  CFU/mL secara intravaginal dan kelompok perlakuan pemberian ekstrak daun turi merah dosis 125 mg/kgBB, 250 mg/kgBB, dan 500 mg/kgBB dilakukan pemeriksaan darah lengkap. Dari hasil pemeriksaan darah lengkap didapatkan bahwa jumlah leukosit meningkat pada kelompok kontrol yang diberikan *Streptococcus agalactiae* dibandingkan kelompok perlakuan pemberian ekstrak daun turi merah.

Kelompok kontrol dan kelompok perlakuan dipelihara hingga melahirkan dengan pemberian makan dan minuman seperti biasa. Pada 24 jam setelah

melahirkan mencit-mencit yang sudah mendapatkan perlakuan dilakukan terminasi dengan prosedur yang telah ditentukan. Sampel organ ginjal yang telah diambil diserahkan ke Laboratorium Mikrobiologi untuk diperiksa jumlah koloni bakteri di ginjal. Sampel plasma darah yang telah diambil disimpan pada lemari es  $-80^{\circ}\text{C}$  di Laboratorium Parasitologi dan selanjutnya setelah sampel terpenuhi dilakukan pemeriksaan  $\text{TNF-}\alpha$  dan  $\text{IL-1}\beta$  menggunakan Elisa Kit dan analisa data.

## **5.2. Hasil Ekstrak Daun Turi Merah (*Sesbania grandiflora* L.Pers)**

Proses ekstraksi dari 900,21 gram daun turi merah segar (*Sesbania grandiflora* L.Pers) menghasilkan serbuk 212,34 gram. Selanjutnya dilakukan maserasi dalam 800 ml etanol 98% dan didapatkan hasil akhir setelah dilakukan penyaringan sebanyak 320 ml. Hasil maserasi disimpan dalam lemari pendingin dengan suhu  $10^{\circ}\text{C}$ . Langkah berikutnya adalah proses evaporasi dan diperoleh hasil akhir sebanyak 53,88 gram ekstrak daun turi merah dalam bentuk pasta. Hasil ekstraksi daun turi merah ini selanjutnya digunakan untuk paparan dosis. Hasil ekstrak daun turi merah dimasukkan kedalam botol kaca dan disimpan didalam freezer dengan suhu  $4^{\circ}\text{C}$  untuk mempertahankan komposisi kandungannya.

## **5.3 Hasil Uji Prasyarat Parametrik**

Dalam penelitian ini variabel yang diteliti adalah kadar  $\text{TNF-}\alpha$  dan  $\text{IL-1}\beta$ . Pengujian kadar  $\text{TNF-}\alpha$  dan  $\text{IL-1}\beta$  dengan menggunakan 1 kelompok kontrol (K) dan 3 level dosis ekstrak daun turi merah (125 mg/kgBB, 250 mg/kgBB, dan 500 mg/kgBB) dilakukan dengan pendekatan statistika parametrik, guna membuktikan hipotesis penelitian. Sebelum dilakukan pengujian statistika parametrik, terlebih dahulu dilakukan pengujian prasyarat yang melandasi

statistika parametrik yaitu uji normalitas data dan homogenitas ragam. Pengujian normalitas data dilakukan dengan menggunakan uji *Shapiro-Wilk*. Uji normalitas data dikatakan terpenuhi jika *p-value* hasil perhitungan lebih besar dari  $\alpha = 0,05$ . Sedangkan asumsi homogenitas ragam dikatakan terpenuhi jika *p-value* hasil perhitungan lebih besar dari  $\alpha = 0,05$ . Berikut hasil pengujian asumsi normalitas dan homogenitas ragam dengan menggunakan bantuan software SPSS pada masing-masing variabel penelitian :

**Tabel 5.2 Hasil uji asumsi normalitas dan homogenitas ragam**

Variabel	Pengujian Asumsi	Koefisien	p-value	Keterangan
Kadar TNF- $\alpha$	Normalitas	0.965	0.547	Normal
	Homogenitas	9.255	0.000	Tidak Homogen
Kadar IL-1 $\beta$	Normalitas	0.930	0.097	Normal
	Homogenitas	2.321	0.106	Homogen

Keterangan: jika *p-value* < 0,05 berarti data tidak terdistribusi normal dan tidak homogen dan jika *p-value* > 0,05 maka data terdistribusi normal dan homogen

Pada Tabel 5.2 berdasarkan pengujian asumsi normalitas didapatkan koefisien *Shapiro-Wilk* pada variabel kadar TNF- $\alpha$  dan kadar IL-1 $\beta$  telah menunjukkan nilai *p-value* lebih besar dari taraf signifikansi  $\alpha = 0,05$  ( $p > 0,05$ ). Maka dapat disimpulkan bahwa semua data telah memenuhi uji prasyarat parametrik, yaitu data terbukti terdistribusi normal. Pada pengujian homogenitas ragam didapatkan koefisien *Levene Statistic* pada variabel kadar TNF- $\alpha$  telah menunjukkan nilai *p-value* kurang dari 0,05 ( $p < 0,05$ ). Maka dapat disimpulkan bahwa uji homogenitas ragam pada variabel tersebut tidak terpenuhi, sehingga diperlukan proses transformasi data. Sedangkan pada variabel kadar IL-1 $\beta$  didapatkan *p-value* lebih dari 0,05 ( $p > 0,05$ ). Maka dapat disimpulkan bahwa uji homogenitas ragam pada variabel tersebut terpenuhi.

Salah satu transformasi data yang dapat diterapkan adalah dengan transformasi Logaritma Natural Ln (Y). Berikut hasil pengujian normalitas dan homogenitas ragam pada data kadar TNF- $\alpha$  yang telah ditransformasi:

**Tabel 5.3 Uji normalitas data dan homogenitas ragam variabel kadar TNF- $\alpha$  yang telah ditransformasi**

Variabel	Pengujian Asumsi	Koefisien	p-value	Keterangan
Kadar TNF- $\alpha$	Normalitas	0.954	0.326	Normal
	Homogenitas	3.821	0.026	Tidak Homogen

Keterangan: jika  $p\text{-value} < 0,05$  berarti data tidak terdistribusi normal dan tidak homogen dan jika  $p\text{-value} > 0,05$  maka data terdistribusi normal dan homogen

Berdasarkan Tabel 5.3 di atas, hasil uji homogenitas ragam pada variabel TNF- $\alpha$  yang telah ditransformasi, didapatkan nilai  $p\text{-value}$  kurang dari  $\alpha = 0,05$  ( $p < 0,05$ ) yang menunjukkan bahwa uji homogenitas ragam pada variabel kadar TNF- $\alpha$  tidak terpenuhi, meskipun sudah dilakukan transformasi data. Maka, proses pengujian secara statistika pada variabel kadar TNF- $\alpha$  tersebut dilakukan dengan pendekatan statistika non parametrik dengan menggunakan uji *Kruskal-Willis*.

#### **5.4 Hasil Uji Perbandingan Pemberian Ekstrak Daun Turi Merah terhadap Kadar TNF- $\alpha$**

Sebagaimana telah dijelaskan dalam hasil pengujian homogenitas ragam, variabel kadar TNF- $\alpha$  tidak terpenuhi meskipun telah dilakukan transformasi data. Selanjutnya dilakukan pengujian untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun turi merah (*Sesbania grandiflora* L. Pers) terhadap kadar TNF- $\alpha$  secara nonparametrik dengan menggunakan uji Kruskal-Wallis. Berikut hasil pengujian pengaruh pemberian ekstrak daun turi merah dengan beberapa level dosis terhadap kadar TNF- $\alpha$  dengan menggunakan uji Kruskal-Wallis.



Berdasarkan hasil analisis dengan menggunakan uji Kruskal-Willis, menunjukkan bahwa ada perbedaan yang bermakna rata-rata kadar TNF- $\alpha$  antara kelompok kontrol (diinfeksi *Streptococcus agalactiae*) dengan kelompok perlakuan pemberian daun turi merah dengan dosis 125 mg/kgBB, 250 mg/kgBB, 500 mg/kgBB. Hal ini ditunjukkan dengan nilai  $p\text{-value} = 0,000$ , lebih kecil daripada  $\alpha = 0,05$  ( $p < 0,05$ ). Kemudian dilanjutkan dengan uji IRI-RJI 5% diperoleh dan ditampilkan secara lengkap pada tabel dibawah ini :

**Tabel 5.4 Perbandingan pengaruh pemberian ekstrak daun turi merah terhadap kadar TNF- $\alpha$  yang diinjeksi *Streptococcus agalactiae***

Perlakuan Pengamatan	Mean $\pm$ SD	p-value
Kontrol ( <i>S.agalactiae</i> )	36.97 $\pm$ 16.36 <sup>c</sup>	0.016
P1 (S.A + daun turi 125 mg/kgBB)	27.09 $\pm$ 7.17 <sup>bc</sup>	
P2 (S.A + daun turi 250 mg/kgBB)	18.16 $\pm$ 6.41 <sup>ab</sup>	
P3 (S.A + daun turi 500 mg/kgBB)	17.41 $\pm$ 4.30 <sup>a</sup>	

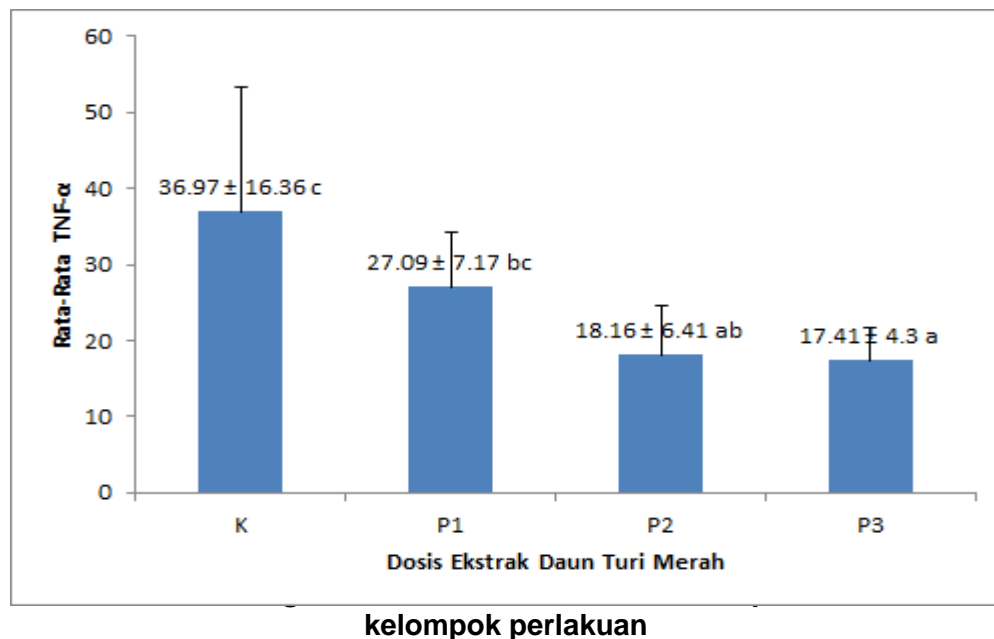
Keterangan: pada rerata $\pm$ sd jika memuat huruf yang berbeda berarti ada perbedaan yang bermakna ( $p < 0,05$ ) dan jika memuat huruf yang sama berarti tidak ada perbedaan yang bermakna ( $p > 0,05$ )

Pada Tabel 5.4 berdasarkan uji |RI-RJ| 5% antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan pemberian ekstrak daun turi merah dengan dosis 125 mg/kgBB, 250 mg/kgBB, dan 500 mg/kgBB. Ditunjukkan bahwa penurunan kadar TNF- $\alpha$  secara signifikan terjadi pada kelompok perlakuan pemberian ekstrak daun turi merah dosis 250 mg/kgBB dan 500 mg/kgBB. Hal ini ditunjukkan dari nilai rata-rata  $\pm$  sd kelompok perlakuan dosis 250 mg/kgBB dan 500 mg/kgBB lebih rendah dan memuat huruf yang berbeda dengan kelompok kontrol. Sedangkan pada kelompok perlakuan dosis 125 mg/kgBB, rata-rata kadar TNF- $\alpha$  tidak berbeda signifikan secara statistik dengan kelompok kontrol, hal ini ditunjukkan dari nilai rata-rata  $\pm$  sd kelompok perlakuan dosis 125 mg/kgBB memuat huruf yang sama dengan kelompok kontrol. Meskipun secara deskriptif terjadi penurunan rata-rata kadar TNF- $\alpha$ . Dengan kata lain terbukti bahwa pemberian ekstrak daun turi merah mampu menurunkan kadar TNF- $\alpha$  pada *Mus*

*musculus* nifas yang diinfeksi *Streptococcus agalactiae*. jadi hipotesis pertama telah terbukti, yaitu ekstrak daun turi merah menurunkan kadar TNF- $\alpha$  pada *Mus musculus* nifas yang diinfeksi *Streptococcus agalactiae*.

Pada perbandingan antara kelompok perlakuan, ditunjukkan bahwa rata-rata kadar TNF- $\alpha$  pada kelompok perlakuan dosis 250 mg/kgBB dan kelompok perlakuan dosis 500 mg/kgBB tidak berbeda signifikan. Hal ini ditunjukkan dari nilai rata-rata  $\pm$  sd kelompok perlakuan dosis 250 mg/kgBB dan dosis 500 mg/kgBB memuat huruf yang sama.

Selanjutnya rata-rata kadar TNF- $\alpha$  pada keempat kelompok sampel tersebut disajikan secara lengkap pada gambar histogram (diagram batang) di bawah ini :



Keterangan :

- K : Kelompok kontrol yang diinjeksi *Streptococcus agalactiae* dengan dosis  $5 \times 10^3$  CFU/mL secara intravaginal
- P1: Kelompok perlakuan injeksi *Streptococcus agalactiae* + pemberian ekstrak daun turi merah dosis 125 mg/kgBB
- P2 : Kelompok perlakuan injeksi *Streptococcus agalactiae* + pemberian ekstrak daun turi merah dosis 250 mg/kgBB
- P3 : Kelompok perlakuan injeksi *Streptococcus agalactiae* + pemberian ekstrak daun turi merah dosis 500 mg/kgBB

Pada gambar 5.1 menunjukkan histogram rata-rata kadar TNF- $\alpha$  pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan pemberian ekstrak daun turi merah

dosis 125 mg/kgBB, 250 mg/kgBB, dan 500 mg/kgBB. Dimulai dari kelompok kontrol, terlihat bahwa rata-rata kadar TNF- $\alpha$  menurun pada semua kelompok perlakuan pemberian ekstrak daun turi merah, baik pada dosis 125 mg/kgBB, 250 mg/kgBB, maupun dosis 500 mg/kgBB. Adapun rata-rata kadar TNF- $\alpha$  terendah ditunjukkan pada kelompok perlakuan pemberian ekstrak daun turi merah dosis 250 mg/kgBB dan 500 mg/kgBB dibandingkan dengan kelompok perlakuan yang lain. Hal ini dapat dikatakan bahwa dalam penelitian ini pemberian ekstrak daun turi merah yang cepat menurunkan kadar TNF- $\alpha$  pada mencit nifas yang diinfeksi *Streptococcus agalactiae* adalah pemberian ekstrak daun turi merah dosis 250 mg/kgBB dan 500 mg/kgBB.

### **5.5 Hasil Uji Perbandingan Pemberian Ekstrak Daun Turi Merah Terhadap Kadar IL-1 $\beta$**

Berdasarkan hasil analisis dengan menggunakan uji *Anova one way* pada kadar IL-1 $\beta$  diperoleh ada perbedaan yang bermakna rata-rata kadar IL-1 $\beta$  pada mencit nifas antara kelompok kontrol (diinfeksi *Streptococcus agalactiae*) dengan kelompok perlakuan pemberian daun turi merah dengan dosis 125 mg/kgBB, 250 mg/kgBB, 500 mg/kgBB. Hal ini ditunjukkan dengan nilai *p-value* = 0,000, lebih kecil daripada  $\alpha$  = 0,05 ( $p < 0,05$ ). Selanjutnya pada uji perbandingan berganda (*Multiple Comparisons*) dengan uji Beda Nyata Terkecil/BNT (*Least Significant Difference/LSD*) disajikan pada tabel di bawah ini:

**Tabel 5.5 Perbandingan pengaruh pemberian ekstrak daun turi merah terhadap kadar IL-1 $\beta$  yang diinjeksi *Streptococcus agalactiae***

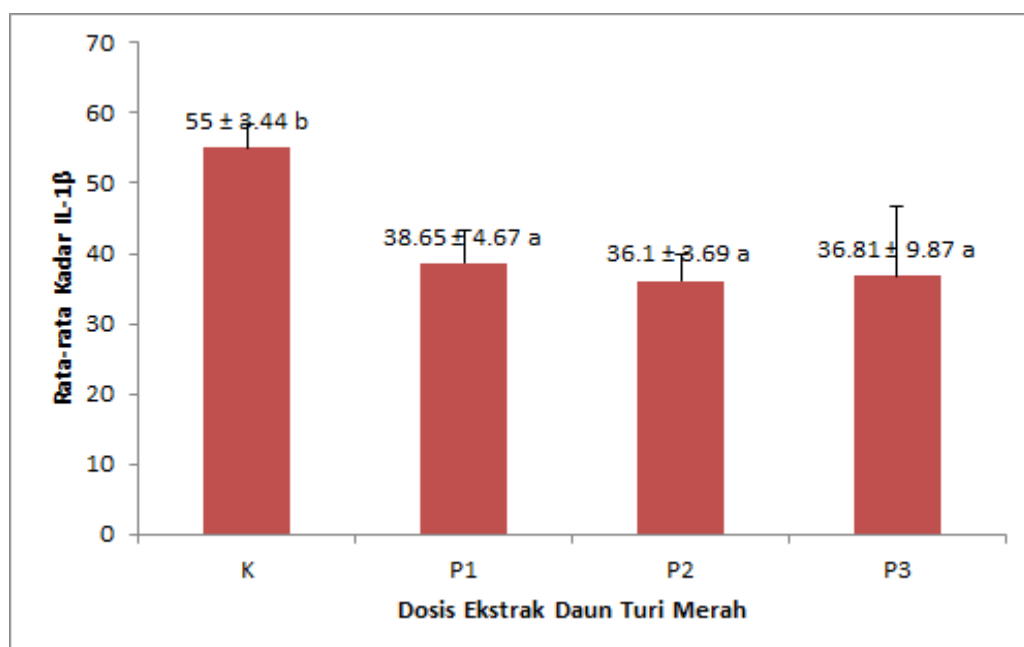
Kelompok pengamatan	Rerata $\pm$ stan.dev	<i>p-value</i>
Kontrol ( <i>S.agalactiae</i> )	55 $\pm$ 3.44 <sup>b</sup>	0.000< $\alpha$
P1 (S.A + daun turi 125 mg/kgBB)	38.65 $\pm$ 4.67 <sup>a</sup>	
P2 (S.A + daun turi 250 mg/kgBB)	36.1 $\pm$ 3.69 <sup>a</sup>	
P3 (S.A + daun turi 500 mg/kgBB)	36.81 $\pm$ 9.87 <sup>a</sup>	

Keterangan : Pada rerata $\pm$ sd jika memuat huruf yang berbeda berarti ada perbedaan yang bermakna (*p-value*<0,05) dan jika memuat huruf yang sama berarti tidak ada perbedaan yang bermakna (*p-value*>0,05).

Pada Tabel 5.5 berdasarkan hasil uji perbandingan berganda dengan uji *LSD* antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan pemberian ekstrak daun turi merah dengan dosis 125 mg/kgBB, 250 mg/kgBB, dan 500 mg/kgBB. Ditunjukkan bahwa penurunan kadar IL-1 $\beta$  secara signifikan didapatkan pada semua kelompok perlakuan pemberian ekstrak daun turi merah, baik pada dosis 125 mg/kgBB, 250 mg/kgBB, maupun 500 mg/kgBB. Hal ini ditunjukkan dari nilai rata-rata  $\pm$  sd semua kelompok perlakuan lebih rendah dan memuat huruf yang berbeda jika dibandingkan dengan kelompok kontrol. Dengan kata lain, terbukti pemberian ekstrak daun turi merah mampu menurunkan kadar IL-1 $\beta$  pada *Mus musculus* nifas yang diinfeksi *Streptococcus agalactiae*. jadi hipotesis kedua telah terbukti, yaitu ekstrak daun turi merah menurunkan kadar IL-1 $\beta$  pada *Mus musculus* nifas yang diinfeksi *Streptococcus agalactiae*.

Pada perbandingan antara kelompok perlakuan, ditunjukkan bahwa rata-rata kadar IL-1 $\beta$  pada kelompok Perlakuan dosis 125 mg/kgBB, kelompok perlakuan dosis 250 mg/kgBB dan kelompok perlakuan dosis 500 mg/kgBB tidak berbeda signifikan. Hal ini ditunjukkan dari nilai rata-rata  $\pm$  sd kelompok perlakuan dosis 125 mg/kgBB, 250 mg/kgBB dan 500 mg/kgBB memuat huruf yang sama.

Selanjutnya rata-rata kadar IL-1 $\beta$  pada keempat kelompok sampel tersebut disajikan secara lengkap pada gambar histogram (diagram batang) di bawah ini:



**Gambar 5.2 Histogram rata-rata kadar IL-1 $\beta$  kelompok kontrol dan kelompok perlakuan**

Keterangan :

- K : Kelompok kontrol yang diinjeksi *Streptococcus agalactiae* dengan dosis  $5 \times 10^3$  CFU/mL secara intravaginal
- P1: Kelompok perlakuan injeksi *Streptococcus agalactiae* + pemberian ekstrak daun turi merah dosis 125 mg/kgBB
- P2 : Kelompok perlakuan injeksi *Streptococcus agalactiae* + pemberian ekstrak daun turi merah dosis 250 mg/kgBB
- P3 : Kelompok perlakuan injeksi *Streptococcus agalactiae* + pemberian ekstrak daun turi merah dosis 500 mg/kgBB

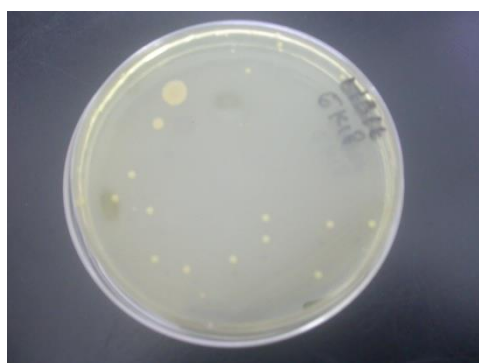
Pada gambar 5.2 menunjukkan histogram rata-rata kadar IL-1 $\beta$  pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan pemberian ekstrak daun turi merah dosis 125 mg/kgBB, 250 mg/kgBB, dan 500 mg/kgBB. Dimulai dari kelompok kontrol, terlihat bahwa rata-rata kadar IL-1 $\beta$  menurun pada semua kelompok perlakuan pemberian ekstrak daun turi merah, baik pada dosis 125 mg/kgBB, 250 mg/kgBB, maupun dosis 500 mg/kgBB. Adapun rata-rata kadar IL-1 $\beta$  terendah ditunjukkan pada kelompok perlakuan pemberian ekstrak daun turi merah dosis 250 mg/kgBB dibandingkan dengan kelompok perlakuan yang lain.

Hal ini dapat dikatakan bahwa dalam penelitian ini pemberian ekstrak daun turi merah yang dianggap paling cepat menurunkan kadar IL-1 $\beta$  pada mencit nifas yang diinfeksi *Streptococcus agalactiae* adalah pemberian ekstrak daun turi merah dosis 250 mg/kgBB.

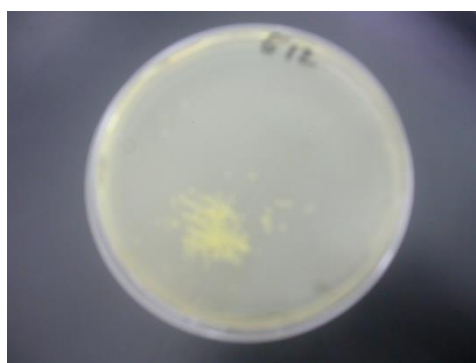
### 5.3. Hasil Uji Pemberian Ekstrak Daun Turi Merah terhadap Jumlah Koloni Bakteri pada Organ Ginjal

Berdasarkan hasil pemeriksaan koloni bakteri pada organ ginjal dengan metode kultur didapatkan bahwa tidak ada koloni bakteri *Streptococcus agalactiae* yang ditemukan pada organ ginjal mencit nifas yang diinfeksi *Streptococcus agalactiae* dengan dosis  $5 \times 10^3$  CFU/mL secara intravaginal dalam waktu 24 jam, baik pada kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan pemberian ekstrak daun turi merah dosis 125 mg/kgBB, 250 mg/kgBB, 500 mg/kgBB.

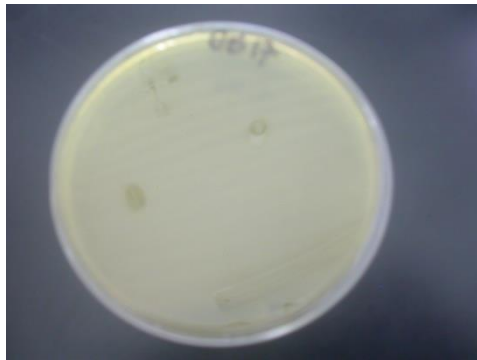
Berikut adalah hasil pemeriksaan koloni bakteri pada organ ginjal mencit nifas yang diinfeksi *Streptococcus agalactiae* dalam waktu 24 jam diperoleh dan ditampilkan secara lengkap pada gambar dibawah ini :



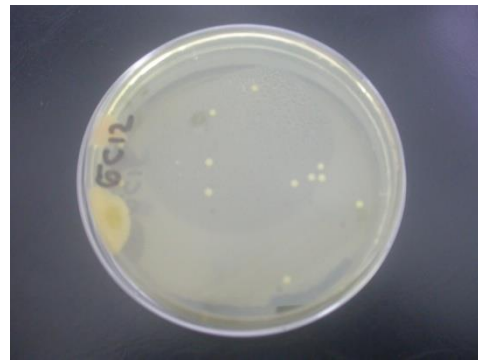
Kelompok kontrol :  
*Streptococcus agalactiae* dosis  
 $5 \times 10^3$  CFU/mL



Kelompok perlakuan 1 :  
*S.agalactiae* + ekstrak daun  
turi merah dosis 125 mg/kgBB



Kelompok perlakuan 2 :  
*S.agalactiae* + ekstrak daun  
turi merah dosis 250 mg/kgBB



Kelompok perlakuan 3 :  
*S.agalactiae* + ekstrak daun  
turi merah dosis 500 mg/kgBB

**Gambar 5.3 Hasil kultur koloni bakteri *Streptococcus agalactiae* pada organ ginjal mencit nifas**

Dari hasil tersebut selanjutnya dilakukan pemeriksaan koloni bakteri *Streptococcus agalactiae* dalam darah mencit nifas yang diinfeksi *Streptococcus agalactiae* pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan pemberian ekstrak daun turi merah dengan dosis 125 mg/kgBB, 250 mg/kgBB, dan 500 mg/kgBB pada mencit yang berbeda. Berikut hasil pemeriksaan kultur bakteri *Streptococcus agalactiae* di darah dengan menggunakan alat BACTEC 9050 didapatkan hasil sebagai berikut:

**Tabel 5.6 Pemeriksaan koloni bakteri dalam darah mencit pada kelompok perlakuan.**

Kelompok Pengamatan	Koloni Bakteri	
	Tidak Ada	Ada
Kontrol ( <i>S.agalactiae</i> )	-	ada
P1 ( <i>S.A</i> + daun turi 125 mg/kgBB)	-	ada
P2 ( <i>S.A</i> + daun turi 250 mg/kgBB)	Tidak ada	-
P3 ( <i>S.A</i> + daun turi 500 mg/kgBB)	Tidak ada	-

Keterangan :

K : Kelompok kontrol yang diinjeksi *Streptococcus agalactiae* dengan dosis  $5 \times 10^3$  CFU/mL secara intravaginal

P1: Kelompok perlakuan injeksi *Streptococcus agalactiae* + pemberian ekstrak daun turi merah dosis 125 mg/kgBB

P2 : Kelompok perlakuan injeksi *Streptococcus agalactiae* + pemberian ekstrak daun turi merah dosis 250 mg/kgBB

P3 : Kelompok perlakuan injeksi *Streptococcus agalactiae* + pemberian ekstrak daun turi merah dosis 500 mg/kgBB

Sebagaimana ditunjukkan dalam Tabel 5.6 bahwa pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan pemberian ekstrak daun turi merah dosis 125 mg/kgBB menunjukkan adanya koloni bakteri *Streptococcus agalactiae* yang ditemukan dalam darah mencit, sedangkan pada kedua kelompok perlakuan pemberian ekstrak daun turi merah dosis 250 mg/kgBB dan 500 mg/kgBB menunjukkan tidak ada koloni bakteri *Streptococcus agalactiae* yang ditemukan dalam darah mencit.



## BAB 6

### PEMBAHASAN

#### 6.1 Ekstraksi dan Uji Fitokimia Daun Turi Merah (*Sesbania grandiflora* L. *Pers*)

Pada Penelitian ini daun turi merah diperoleh dari desa Balongbesok Kecamatan Diwek Kabupaten Jombang Jawa Timur dan proses ekstraksi dilakukan di Laboratorium Hama dan Penyakit Tanaman (HPT) Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya Malang. Proses ekstraksi daun turi merah (*Sesbania grandiflora* L.*Pers*) dilakukan dengan menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Ekstraksi dengan menggunakan metode maserasi dilakukan karena kandungan flavonoid pada daun turi merah tidak tahan terhadap panas. Pelarut yang digunakan adalah pelarut etanol 98% karena etanol lebih dapat mengekstraksi kandungan polifenol (flavonoi dan tanin) serta saponin dibandingkan pelarut lainnya, artinya etanol lebih efisien dalam degradasi dinding sel yang memiliki karakter non-polar dan menyebabkan polifenol keluar dari sel. Penelitian Thoha *et al.* (2009) menunjukkan bahwa ekstraksi menggunakan pelarut etanol menghasilkan saponin lebih banyak dibandingkan dengan pelarut isopropil alkohol. Setelah dilakukan ekstraksi maserasi dan didapatkan hasil ekstrak daun turi merah kental dilanjutkan dengan proses evaporasi. Evaporasi dilakukan dengan menggunakan *rotary evaporatory*. Evaporasi ekstrak dilakukan untuk memisahkan pelarut dari zat terlarut didalamnya tanpa pemanasan yang tinggi.

Hasil uji kualitatif dari ekstrak daun turi merah (*Sesbania grandiflora* L.*Pers*) di Laboratorium Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang menunjukkan bahwa positif adanya kandungan flavonoid, saponin, dan tanin. Hal ini sesuai dengan penelitian Dethe *et al.* (2014) yang menyebutkan

bahwa daun turi merah memiliki kandungan flavonoid, saponin dan tanin. Dari hasil identifikasi, senyawa flavonoid yang terkandung dalam ekstrak daun turi merah ditandai dengan perubahan warna hijau kekuningan menjadi hijau, saponin ditandai dengan terbentuknya buih lebih kurang 1-1,5 cm stabil lebih kurang 10 menit. Sedangkan tanin ditandai dengan adanya endapan hijau kehitaman dengan penambahan  $\text{FeCl}_3$  1% atau NaCl 1%.

## **6.2 Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Turi Merah pada *Mus musculus* Nifas yang Diinfeksi *Streptococcus agalactiae***

### **6.2.1 Pengaruh pemberian ekstrak daun turi merah terhadap kadar TNF- $\alpha$**

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun turi merah (*Sesbania grandiflora* L. Pers) menurunkan kadar TNF- $\alpha$  pada mencit nifas yang diinfeksi *Streptococcus agalactiae*. Berdasarkan hasil uji Kruskal-Wallis didapatkan bahwa ada perbedaan yang bermakna rata-rata kadar TNF- $\alpha$  antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan pemberian ekstrak daun turi merah dengan dosis pemberian 125 mg/kgBB, 250 mg/kgBB, 500 mg/kgBB. Penurunan kadar TNF- $\alpha$  yang cepat pada mencit nifas yang diinfeksi *Streptococcus agalactiae* terdapat pada pemberian ekstrak daun turi merah dosis 250 mg/kgBB dan 500 mg/kgBB.

Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun turi merah (*Sesbania grandiflora* L. Pers) dosis 250 mg/kgBB dan dosis 500 mg/kgBB sebagai antimikroba yang efektif. Penelitian Naqi (2014) secara *in vitro* menyatakan bahwa ekstrak etanol daun turi merah memiliki efek sebagai antibakteri, baik terhadap bakteri gram positif seperti *Streptococcus*, *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) maupun bakteri gram negatif seperti *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Salmonella typhi* (MTCC 733), *Proteus vulgaris* (MTCC 1771), *Pseudomonas aeruginosa* (MTCC 424),

*Klebsiella* (ATCC 15380). Hal ini dipengaruhi oleh kandungan ekstrak daun turi (*Sesbania grandiflora* L.Pers) yang mengandung flavonoid, saponin, tanin yang berfungsi sebagai antibakteri.

Menurut Sabir (2005) kandungan flavonoid dalam ekstrak daun turi merah sebagai antibakteri mampu menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri dan menghambat mortalitas bakteri. Selain itu Cushine dan Lamb. (2005) menunjukkan bahwa flavonoid juga dapat mencegah sintesis asam nukleat yang dapat menghambat sintesis DNA dan RNA bakteri, mencegah fungsi membran sitoplasma bakteri dan mencegah metabolisme energi bakteri.

Nuria dkk. (2009) menyebutkan bahwa kandungan saponin dalam ekstrak daun turi merah sebagai antibakteri mampu menurunkan tegangan permukaan sehingga mengakibatkan naiknya permeabilitas atau kebocoran sel dan mengakibatkan senyawa intraseluler keluar. Selain itu, saponin juga bekerja sebagai antibakteri dengan mengganggu stabilitas membran sel bakteri, Proses tersebut akan mengakibatkan kerusakan membran sel dan menyebabkan keluarnya berbagai komponen penting dari dalam sel bakteri yaitu protein, asam nukleat, dan nukleotida yang akhirnya menyebabkan sel bakteri lisis

Mekanisme kerja tanin sebagai antibakteri menurut Naim (2004) berhubungan dengan kemampuannya dalam menginaktivasi *adhesion sel* bakteri (molekul yang menempel pada sel hospes) yang terdapat pada permukaan sel. Dimana enzim yang terikat pada membran sel dan polipeptida dinding sel akan menyebabkan kerusakan pada dinding sel bakteri. Kerusakan pada dinding sel bakteri akan menyebabkan kerusakan membran sel bakteri yaitu hilangnya sifat permeabilitas membran sel, sehingga terjadinya keluar masuknya zat-zat antara lain air, nutrisi, enzim-enzim yang tidak terseleksi. Apabila zat keluar dari dalam sel bakteri, maka akan terjadi hambatan metabolisme sel dan selanjutnya akan mengakibatkan terhambatnya pembentukan ATP yang diperlukan untuk

pertumbuhan dan perkembangbiakan sel bakteri. Bila hal tersebut terjadi, maka akan terjadi hambatan pada pertumbuhan sel bahkan kematian sel bakteri (Hayati *et al.*, 2009).

Berdasarkan hasil uji perbandingan berganda dengan menggunakan uji IRI-Rjl 5% menunjukkan bahwa pada kelompok perlakuan pemberian ekstrak daun turi merah dosis 125 mg/kgBB rata-rata kadar TNF- $\alpha$  tidak berbeda signifikan secara statistik dengan kelompok kontrol, meskipun secara deskriptif terjadi penurunan rata-rata kadar TNF- $\alpha$  dibandingkan dengan kelompok kontrol. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun turi merah pada konsentrasi dosis 125 mg/kgBB sebagai antimikroba belum maksimal. Disisi lain kemungkinan disebabkan oleh kemampuan bakteri *Streptococcus agalactiae* mengeluarkan substansi untuk menekan aktivasi sistem imun bawaan sebagai upaya melepaskan diri dari sistem imun *host*. Disamping itu diketahui bahwa bakteri *Streptococcus agalactiae* memiliki dinding luar yang berfungsi sebagai kapsul pelindung (*Polysaccharide-capsules*) yang mampu menolak upaya eliminasi oleh sistem imun bawaan *host*. Sehingga hal ini menyebabkan aktivasi dari sistem imun adaptif yang menstimulasi sel T helper menghasilkan interferon gamma (IFN- $\gamma$ ). Interferon gamma (IFN- $\gamma$ ) meningkatkan aktivasi makrofag sebagai sel efektor. Peran makrofag sebagai sel efektor akan mengeluarkan berbagai sitokin salah satunya TNF- $\alpha$ . Selain itu hasil penelitian juga menunjukkan bahwa pada pemberian ekstrak daun turi merah dosis 125 mg/kgBB ditemukan adanya koloni bakteri *Streptococcus agalactiae* dalam darah mencit nifas yang diinfeksi *Streptococcus agalactiae*. Hal ini menunjukkan bahwa tidak efektifnya aktivasi dari sistem imun bawaan dalam darah mencit pada pemberian ekstrak daun turi merah dosis 125 mg/kgBB.

Penelitian Vallejo (1996) menunjukkan bahwa infeksi yang disebabkan oleh bakteri gram positif diketahui mampu merangsang pelepasan dari sitokin

proinflamasi oleh makrofag seperti TNF- $\alpha$ . Hal ini disebabkan oleh komponen dinding bakteri gram positif yang mengandung peptidoglikan dan asam lipoteikoat. Dari hasil penelitian terlihat bahwa rata-rata kadar TNF- $\alpha$  pada kelompok kontrol lebih tinggi dibandingkan kelompok perlakuan pemberian ekstrak daun turi berbagai dosis. Hal ini karena TNF- $\alpha$  merupakan sitokin proinflamasi yang diproduksi makrofag memiliki peran penting dalam proses inflamasi sebagai bagian dari upaya melokalisasi dan eliminasi proses infeksi. Keberadaan antigen dan komponen dinding sel bakteri *Streptococcus agalactiae* yang mengandung peptidoglikan dan asam lipoteikoat akan merangsang aktivasi makrofag sehingga merilis produksi sitokin proinflamasi (Kresno, 2010). Disisi lain, pelepasan TNF- $\alpha$  yang berlebihan oleh makrofag ke dalam aliran darah dapat menyebabkan kondisi yang berbahaya yang dikenal sebagai sepsis. Selain itu juga dapat terjadinya pelebaran pembuluh darah lokal, vasodilatasi sistemik yang dapat menyebabkan kebocoran cairan ke dalam jaringan dan terjadinya pembekuan darah yang luas. Bila hal ini terjadi maka dapat menimbulkan syok septik, kegagalan organ bahkan kematian (Baratawidjaja, 2013).

Hasil penelitian Kwak *et al.* (2000) menunjukkan bahwa kadar TNF- $\alpha$  terdeteksi dalam waktu inkubasi 2 jam paparan *Streptococcus* grup B. Penelitian Schulte *et al.* (2013) menyatakan bahwa konsentrasi TNF- $\alpha$  meningkat dalam sirkulasi sistemik dalam waktu 60-90 menit setelah induksi *Lipopolysacharida* (LPS) bakteri. Selain itu penelitian Blackwell and Christman. (2001) juga menunjukkan bahwa konsentrasi TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 dan IL-2 meningkat di dalam plasma pada pasien dengan syok septik dibandingkan dengan pasien sepsis atau dengan penyebab syok lainnya. Penelitian Rosati *et al.* (1998) juga menunjukkan bahwa kadar TNF- $\alpha$  meningkat pada mencit yang diinjeksi *Streptococcus agalactiae* secara intraperitoneal dalam waktu 24 jam, dan level tertinggi terjadi dalam waktu 36 jam setelah diinfeksi *Streptococcus agalactiae*.

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun turi merah khususnya pada dosis 250 mg/kgBB dan 500 mg/kgBB dapat menurunkan kadar TNF- $\alpha$  pada mencit nifas yang diinfeksi *Streptococcus agalactiae*, hal ini dikarenakan kandungan flavonoid, saponin dan tanin dalam ekstrak daun turi merah yang berfungsi sebagai antibakteri yang dapat menyebabkan hambatan pada pertumbuhan bakteri dan bahkan lisisnya sel bakteri, sehingga induksi aktivasi sistem imun juga menurun. Hambatan pertumbuhan dan lisisnya bakteri ini menyebabkan tidak adanya pelepasan toksin, peptidoglikan dan asam lipoteikoat dari bakteri, sehingga tidak merangsang pelepasan sitokin proinflamasi oleh makrofag seperti TNF- $\alpha$ .

#### **6.2.2 Pengaruh pemberian ekstrak daun turi merah terhadap kadar IL-1 $\beta$**

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun turi merah menurunkan kadar IL-1 $\beta$  pada mencit nifas yang diinfeksi *Streptococcus agalactiae*. Berdasarkan hasil uji *Anova one way* didapatkan bahwa ada perbedaan yang bermakna rata-rata kadar IL-1 $\beta$  antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan pemberian ekstrak daun turi merah dosis 125 mg/kgBB, 250 mg/kgBB, 500 mg/kgBB.

Interleukin 1 beta (IL-1 $\beta$ ) merupakan salah satu sitokin proinflamasi yang dapat mempengaruhi setiap organ dan mampu menyebabkan efek patologis pada manusia terutama bila terjadi produksi IL-1 $\beta$  yang tidak terkendali. Selain itu IL-1 $\beta$  juga diketahui memberikan perlindungan terhadap infeksi yang disebabkan oleh bakteri, virus dan jamur dengan mengaktifkan beberapa respon termasuk perekrutan neutrofil secara cepat ke tempat inflamasi, aktivasi molekul adhesi endotel, induksi sitokin dan kemokin, induksi respon demam dan stimulasi dari sistem imun adaptif seperti respon Th17. Namun, pengeluaran IL-1 $\beta$  yang berlebihan menyebabkan kerusakan pada jaringan *host* (Sahoo *et al.*, 2011).

Berdasarkan hasil dari ketiga kelompok perlakuan pemberian ekstrak daun turi merah dosis 125 mg/kgBB, 250 mg/kgBB, dan 500 mg/kgBB yang dianggap paling cepat menurunkan kadar IL-1 $\beta$  adalah dosis 250 mg/kgBB. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Vipin *et al.* (2011) yang melaporkan bahwa pemberian ekstrak daun turi merah dosis 250 mg/kgBB per hari memiliki kemampuan sebagai antimikroba terhadap bakteri gram positif maupun bakteri gram negatif.

Pemberian ekstrak daun turi merah dosis 250 mg/kgBB mampu menurunkan kadar IL-1 $\beta$  begitu juga dengan pemberian dosis 500 mg/kgBB yang mampu menurunkan kadar IL-1 $\beta$ . Namun, jika dilihat dari nilai rata-rata terjadi peningkatan pada kadar IL-1 $\beta$  pada kelompok perlakuan dosis 500 mg/kgBB. Peningkatan kadar IL-1 $\beta$  ini kemungkinan disebabkan oleh kemampuan ekstrak daun turi merah sebagai antimikroba lebih intensif terutama kecepatan dalam membunuh bakteri. Kematian bakteri yang terjadi secara cepat menyebabkan *Pathogen-associated Molecular Patterns* (PAMP) meningkat. Peningkatan ini menyebabkan makrofag lebih diaktifasi untuk proses *clearance* bakteri *Streptococcus agalactiae*. Makrofag yang meningkat menyebabkan pengeluaran sitokin proinflamasi seperti IL-1 beta juga meningkat (Abbas & Litchman., 2015). Selain itu, hal ini juga ditunjukkan oleh peran ekstrak daun turi merah sebagai Immunomodulator yang berpotensi efektif pada respon imun bawaan, imun humoral bahkan pada imunitas seluler. Hasil penelitian Arunabha (2014) menunjukkan bahwa ekstrak metanol bunga turi merah dosis 400 mg/kgBB memiliki aktivitas sebagai immunomodulator.

### **6.2.3 Pengaruh pemberian ekstrak daun turi merah terhadap jumlah koloni bakteri pada organ ginjal**

Hasil penelitian menunjukkan bahwa tidak ditemukannya koloni bakteri pada organ ginjal mencit nifas yang diinfeksi *Streptococcus agalactiae* dengan dosis  $5 \times 10^3$  CFU/mL, baik pada kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan pemberian ekstrak daun turi merah dosis 125 mg/kgBB, 250 mg/kgBB, dan 500 mg/kgBB. Selanjutnya berdasarkan hasil penelitian dengan menggunakan perlakuan yang sama pada mencit yang berbeda ditemukan adanya koloni bakteri *Streptococcus agalactiae* dalam darah pada kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan dosis 125 mg/kgBB. Namun, pada dosis 250 mg/kgBB dan 500 mg/kgBB tidak ditemukan koloni bakteri *Streptococcus agalactiae* dalam darah mencit yang diinfeksi *Streptococcus agalactiae*.

Penelitian ini juga didukung oleh hasil penelitian Mardiana dan Veronika (2016) yang menunjukkan bahwa tidak ditemukannya koloni bakteri *Streptococcus agalactiae* pada organ hati dan limfa pada mencit nifas yang diinfeksi bakteri *Streptococcus agalactiae* dalam waktu 24 jam, baik pada kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan pemberian ekstrak daun turi merah pada berbagai dosis.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ketika bakteri berada didalam darah yaitu pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan pemberian ekstrak daun turi dosis 125 mg/kgBB terjadi proses *clearance* dalam hati. Dalam hal ini, bakteri yang berada didalam darah atau sering disebut bakteremia akan segera dibersihkan atau dibasmi saat darah yang mengandung bakteri melewati hati. Penelitian Gregory *et al.* (2001) melaporkan bahwa ketika tikus diinokulasi bakteri *Listeria monocytogenes* secara intravena, maka dipulihkan dalam hati pada waktu 10 menit setelah infeksi dengan cara mendistribusikan bakteri ini ke seluruh sel *hepatocyte* dan *nonparenchymal* hati. Jumlah dari *Listeria*



*monocytogenes* dalam hati akan menurun 0,5-1,0 log antara 10 menit dan 6 jam setelah infeksi. Penurunan ini berhubungan dengan peningkatan tujuh kali lipat dari persentase neutrofil yang berada di sel *nonparenchymal*. Namun, ketika tikus diberikan *anti-granulocyte* (RB6-8C5) sebelum perlakuan maka terjadi penurunan neutrofil dalam hati, penurunan ini menyebabkan berkurangnya kemampuan dari neutrofil untuk menghilangkan atau membersihkan bakteri *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, dan *Staphylococcus aureus* dalam hati. Dalam hal ini diketahui bahwa neutrofil memiliki peran penting dalam pertahanan tubuh nonspesifik pada infeksi bakteri sistemik yang diekspresikan dalam hati.

Selain itu penelitian Kronforst *et al.* (2012) juga menunjukkan bahwa ada penurunan yang signifikan pada jumlah koloni bakteri di limfa, hati, dan darah pada anak mencit usia kurang dari 24 jam yang diinfeksi bakteri *Staphylococcus epidermidis* dosis  $10^6$ ,  $10^7$ , dan  $10^8$  CFU. Hal ini disebabkan oleh adanya aktivasi respon imun bawaan dan *clearance* bakteri yang terjadi dalam darah dan organ dalam waktu 24 jam hingga 48 jam dari infeksi. Selain itu, juga terjadi peningkatan mRNA selektif dalam hati yang mengkode *Toll Like Receptor 2* (TLR2). *Toll Like Receptor 2* merupakan receptor kunci imun bawaan yang memediasi *recognition* dan *clearance* dari beberapa bakteri gram positif termasuk *Staphylococcus epidermidis*.

Tubuh memiliki kemampuan dalam mengeliminasi patogen penyebab penyakit. Diketahui respon imun adaptif dihati memainkan peran penting dalam induksi awal imunitas antibakteri, dimana sel *Natural Killer T* (NKT), *Kupffer cells* (KCs), sel NK dan sel T berkolaborasi dalam mengeliminasi patogen penyebab infeksi dalam darah. Pada kondisi normal, sel Kuffer memfagositosis bakteri yang menyebabkan pembersihan bakteri secara cepat dari hati. Hati selain memiliki fungsi sebagai sintesis protein dan metabolisme, juga bertanggungjawab pada mengeliminasi patogen dan antigen eksogen dari sirkulasi sistemik (Bogdanos *et*

*al.*, 2013). Hati diketahui memiliki dua pembuluh yaitu arteri hati dan vena porta hepatis. Arteri hati membawa darah dengan kandungan oksigen dari jantung masuk ke hati sedangkan vena porta membawa darah yang mengandung sari makanan dari usus halus. Sehingga ketika bakteri berada di darah melewati hati terjadi *Clearance*, maka darah yang dikeluarkan dari hati dalam keadaan bebas dari bakteri. Selanjutnya darah tersebut menuju ke ginjal dan masuk ke dalam ginjal melalui bagian cekungan ginjal (hilus renalis). Sehingga pada organ ginjal mencit nifas tidak ditemukannya koloni bakteri *Streptococcus agalactiae* (Anfisman, 2010).

Selain itu, hasil penelitian ini kemungkinan juga dipengaruhi oleh masa inkubasi dan dosis pemberian bakteri *Streptococcus agalactiae* melalui vagina mencit nifas yang masih kurang. Hal ini di dukung oleh penelitian Aryanto (2011) yang menunjukkan bahwa pada pemberian bakteri *Streptococcus agalactiae* tipe  $\beta$ -hemolitik dengan dosis  $10^6$  CFU/ml dan bakteri *Streptococcus agalactiae* tipe non-hemolitik dengan dosis  $10^5$  CFU/ml mampu menginfeksi ikan nila yang ditunjukkan dengan adanya distribusi bakteri yang ditemukan di dalam hati, otak, ginjal dan darah pada hari ke-3 sampai hari ke-5. Selain itu, pada penelitian tersebut juga ditemukan bahwa pada ikan yang diinfeksi *Streptococcus agalactiae* tipe  $\beta$ -hemolitik maupun tipe non-hemolitik juga menyebabkan perubahan makroskopis dan mikroskopis pada organ hati, otak dan ginjal bakteri.

Berbeda halnya dengan hasil penelitian Rosati *et al.* (1998) yang menunjukkan bahwa bakteri *Streptococcus agalactiae* yang diberikan secara intraperitoneal dengan dosis  $5 \times 10^3$  CFU/mL mampu mengkolonisasi semua organ seperti organ peritoneum, darah, limfa, hati, paru-paru, dan ginjal dalam waktu 24 jam setelah pemberian *Streptococcus agalactiae*. Sedangkan pada waktu 36 jam bakteri ini sudah mampu mengkolonisasi semua organ termasuk otak. Kolonisasi

*Streptococcus agalactiae* tertinggi didapatkan dalam organ ginjal pada waktu 24 jam dibandingkan organ lainnya, dan puncaknya terjadi pada waktu 36 jam setelah injeksi *Streptococcus agalactiae*.

Sehingga dapat disimpulkan bahwa tidak ditemukannya koloni bakteri *Streptococcus agalactiae* pada organ ginjal mencit nifas yang diinfeksi *Streptococcus agalactiae* baik pada kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan pemberian ekstrak daun turi merah dosis 125 mg/kgBB, 250 mg/kgBB dan 500 mg/kgBB disebabkan oleh *clearance* yang terjadi dalam hati serta masa inkubasi dan dosis pemberian bakteri *Streptococcus agalactiae* untuk menginfeksi yang masih kurang.

#### **6.2.4 Pengaruh pemberian ekstrak daun turi merah (*Sesbania grandiflora* L.Pers) terhadap penurunan kadar TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ dan jumlah koloni bakteri pada ginjal *Mus musculus* nifas yang diinfeksi *Streptococcus agalactiae*.**

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak daun turi merah (*Sesbania grandiflora* L.Pers) menurunkan kadar TNF- $\alpha$  dan IL-1 $\beta$  pada mencit nifas yang diinfeksi *Streptococcus agalactiae*. Hal ini diduga bahwa senyawa flavonoid, saponin dan tanin yang terkandung dalam ekstrak daun turi merah memiliki efek sebagai antibakteri. Hal ini telah dibuktikan oleh penelitian Yusniwati (2015) yang menunjukkan bahwa ekstrak daun turi merah sebagai antibakteri secara *in vitro*.

Selanjutnya dari hasil penelitian menunjukkan bahwa tidak ada koloni bakteri *Streptococcus agalactiae* yang ditemukan pada ginjal mencit, baik pada kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan yang diberikan secara intravaginal. Hal ini diduga adanya *clearance* yang terjadi didalam hati ketika bakteri yang berada didalam darah melewati hati. Selain itu, juga diduga oleh

masa inkubasi infeksi dan dosis pemberian bakteri *Streptococcus agalactiae* yang masih kurang. Dimana berdasarkan penelitian Aryanto (2011) menunjukkan bahwa bakteri *Streptococcus agalactiae* mampu mengkolonisasi hati, otak, ginjal dan darah dalam waktu 3-5 hari dengan dosis  $10^6$  CFU/ml.

Selain itu, hal ini juga diduga oleh cara pemberian bakteri *Streptococcus agalactiae*. Pada penelitian ini pemberian bakteri *Streptococcus agalactiae* dilakukan secara intravaginal pada mencit nifas dan hasilnya menunjukkan bahwa pemberian bakteri *Streptococcus agalactiae* secara intravaginal tidak mampu mengkolonisasi ginjal mencit nifas dalam waktu 24 jam, baik pada kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan. Namun berbeda halnya dengan penelitian Rosati *et al.* (1998) yang menunjukkan bahwa pemberian bakteri *Streptococcus agalactiae* secara intraperitoneal mampu mengkolonisasi organ ginjal dalam waktu 24 jam dan 48 jam. Berdasarkan hasil penelitian Rayani (2016) pemberian ekstrak daun turi merah ini terbukti menurunkan jumlah koloni bakteri pada vagina mencit nifas yang diinfeksi *Streptococcus agalactiae*. Namun, pada penelitian ini pemberian ekstrak daun turi merah tidak terbukti menurunkan jumlah koloni bakteri pada organ ginjal mencit nifas yang diinfeksi *Streptococcus agalactiae*.

### 6.3 Keterbatasan Penelitian

Dalam proses penelitian ini, terdapat keterbatasan peneliti dalam melakukan pemeriksaan tanda-tanda infeksi lainnya pada semua mencit model infeksi nifas, selain itu peneliti tidak dapat mengendalikan agar mencit tidak terinfeksi oleh bakteri lain sebelum diberi perlakuan, dikarenakan mencit yang diperoleh bukan golongan mencit *patogen free*. Selain itu, peneliti tidak dapat mengontrol waktu partus dari mencit, sehingga pemberian bakteri *Streptococcus agalactiae* dilakukan dengan waktu yang berbeda-beda yaitu bisa diberikan

segera setelah melahirkan atau 0 sampai 12 jam postpartum. Selanjutnya uji fitokimia ekstrak daun turi merah dalam penelitian ini masih dilakukan secara kualitatif.

## BAB 7

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 7.1 Kesimpulan

Kesimpulan dalam penelitian ini adalah pemberian ekstrak daun turi merah (*Sesbania grandiflora* L.Pers) menurunkan kadar TNF- $\alpha$  dan IL-1 $\beta$  pada *Mus musculus* nifas yang diinfeksi *Streptococcus agalactiae*. adapun kesimpulan yang mengacu pada tujuan khusus adalah sebagai berikut :

1. Pemberian ekstrak daun turi merah (*Sesbania grandiflora* L.Pers) terbukti menurunkan kadar TNF- $\alpha$  pada *Mus musculus* nifas yang diinfeksi *Streptococcus agalactiae*. dosis optimum yang mampu menurunkan kadar TNF- $\alpha$  adalah 500 mg/kgBB
2. Pemberian ekstrak daun turi merah (*Sesbania grandiflora* L.Pers) terbukti menurunkan kadar IL-1 $\beta$  pada *Mus musculus* nifas yang diinfeksi *Streptococcus agalactiae*. dosis optimum yang mampu menurunkan kadar IL-1 $\beta$  adalah 250 mg/kgBB
3. Pemberian ekstrak daun turi merah (*Sesbania grandiflora* L.Pers) tidak terbukti menurunkan jumlah koloni bakteri pada *Mus musculus* nifas yang diinfeksi *Streptococcus agalactiae*.

#### 7.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lain mengenai pengaruh pemberian ekstrak daun turi merah sebagai antibakteri pada jenis bakteri lainnya secara *in vivo*, sehingga daun turi merah sebagai antibakteri dapat digunakan untuk terapi infeksi tidak hanya untuk bakteri *Streptococcus agalactiae* tetapi juga untuk jenis bakteri lainnya.

2. Perlu adanya penelitian lanjutan tentang manfaat ekstrak daun turi merah pada dosis 125, 250, dan 500 mg/kgBB pada parameter lain seperti Interferon Gamma (IFN- $\gamma$ ), Immunoglobulin A (IgA) dan sitokin lainnya
3. Perlu dilakukan penambahan dosis dan frekuensi pemberian ekstrak daun turi merah (*Sesbania grandiflora* L.Pers) untuk melihat efek toksik pada infeksi nifas mencit yang diinfeksi *Streptococcus agalactiae*.
4. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan parameter tanda-tanda infeksi yang lain seperti suhu tubuh, laju endap darah sebelum dan sesudah pemberian ekstrak daun turi merah (*Sesbania grandiflora* L. Pers).
5. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang penggunaan daun turi merah (*Sesbania grandiflora* L.Pers) pada subjek manusia untuk mendapatkan pembuktian lebih lanjut tentang manfaat pemberian ekstrak daun turi merah sebagai terapi individu sakit yang disebabkan oleh patogen dengan metode yang bisa diterapkan pada manusia.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, Lichtman and Pillai., 2015. *Cellular and Molecular Immunology*. Eight Edition. Elsevier Saunders : Canada
- Ajaikumar, K.B., Asheef, M., Babu, B.H., & Padikkala, J. 2005. The Inhibition of Gastric Mucosal Injury by Punica granatum L., (Pomegranate) Methanolic Extract. *Journal of Ethnopharmacology*. **96**: 171-176
- Akiyama, H., Fujji, K., Yamasaki, O., Oono, T., Iwatsuki, K., 2001. Antibacterial Action of Several Tannins Against Staphylococcus aureus. *Journal Of Antimicrobial Chemotherapy*. **48**: 487-491
- Al-Dawah, N.K., Al-safi, S.M., Aboktifa, M.A., Al-Zeiny, S.S., Al-Shimmary, B.A., Al-Bayati, M.T.N., Muhammad, N.A., 2014. Comparative of Phytochemical and Antimicrobial of Sesbania Grandiflora Leaves Extract. *ResearchGate*.
- Ambarwati, E., dan Wulandari, D., 2010. *Asuhan Kebidanan Nifas*. Cendikia Press: Yogyakarta
- Anfisman. 2010. Sistem Ekskresi Manusia. Internet. <https://zaifbio.wordpress.com/2010/01/13/sistem-ekskresi-manusia/>. html. diakses tanggal 1 September 2016
- Anis, M., 2009. *Prinsip Umum dan Dasar Farmakologi*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta
- Arunabha, M and Satish, N., 2014. Evaluation of Immunomodulatory Activity of Sesbania Grandiflora Flowers Extract In Mice. *Indonesian Journal Pharmacy*. **25** (4) 277-283
- Aryanto, E.W. 2011. Patogenitas *Streptococcus agalactiae* pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). *Departemen Budidaya Perairan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Institusi Pertanian Bogor*.
- Ballenger Liz. 2014. Mus musculus House Mouse. *Animal Diversity Web*
- Baratawidjaja, K.G dan Rengganis, I., 2014. *Imunologi dasar edisi ke-11*. Badan penerbit FKUI: jakarta
- Blackwell, T.S., Christman, J.W., 2001. Sepsis and Cytokines: Current Status. *British Journal of Anaesthesia*. **77**: 110-117.
- Bogdanos D.P., Gao Bin., and Gershwin M.E., 2013. Liver Immunology. *Compr Physiol*. **3** (2): 567-598
- Clarke, D. 2012. Role of CD4+ Cells In The Regulation of the Immune Response Against Encapsulated Group B Streptococcus. *Department pathology and Microbiological*.



- Cruse, J.M and Lewis, R.E., 2004. *Atlas immunology second Edition*. CRC Press LLC. United States of American
- Cunningham, G. 2006. *Obstetri Williams*. Jakarta: EGC
- Cushnie, T and Lamb, A.J., 2005. Antimicrobial Activity of Flavonoid. *International Journal of Antimicrobial Agents*. **26**: 343-356
- Darsana, I., Besung, I.N.K., Mahatmi, H. 2012. Potensi Daun Binahong (*Andredera Cordifolia* (Tenore) Steenis) dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*. *Indonesia Medicus Veterinus*. **1** (3): 337-351.
- Deborah, J., Kurosawa, S., Osuchowski, M.F., Valentine, C., Kurosawa, S., and Remick, D.G., 2011. Pathogenesis of sepsis. *National Institutes of Health*. 6:19-48
- Dethe, U.L., Joshi, S.S., Desai, S.S and Aparadh, V.T., 2014. Screening of Bioactive Compounds of *Sesbania grandiflora* and *Pistia stratiotes*. *Indian Journal of Advance In Plant Research*. **Vol.1** (1): 27-30.
- Ellerin, T., Rubin, R.H., Weinblatt, M.E., 2003. Infections and Anti-Tumor Necrosis Factor  $\alpha$  Thereapy. *Arthritis and Rheumatism*. **48** (11) pp 3013-3022
- Eschenbach, D.A. 2016. Specific Bacterial Infections : Group B Streptococcus. *The Global Library of Women's Medicine*.
- Failasufi, M. 2008. Uji Daya Antibakteri Ekstrak Bunga Turi Merah (*Sesbania grandiflora* L. Pers terhadap *Staphylococcus aureus* Isolat 100-SV secara In Vitro. *Tugas Akhir*. Tidak diterbitkan, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang.
- George, M. 2016. Flavonoid. *The world's healthiest foods*. Internet. <http://www.whfoods.com/genpage.php?tname=nutrient&dbid=119>. Diakses tanggal 6 April 2016
- Gilbert, A.N. 1984. Postpartum and lactational estrus: a comparative analysis in rodentia. *Journal Comp. Psychol*. **98**, 232-245
- Gregory, S.H., Sagnimeni, A.J., Wing, E.J., 2001. Bacteria in the bloodstream are trapped in the liver and killed by immigrating neutrophils. *Journal immunol*. 15:157 (**6**): 2514-20
- Hayati, E.K., Jannah, A., dan Fasya, A.G., 2009. *Aktivitas Antibakteri Komponen Tanin Ekstrak Daun Belimbing Wuluh (Averrhoa bilimbi L.) sebagai Pengawet Alami*. Laporan Penelitian Kuantitatif Depag. Jakarta: Departemen Agama.
- Heyne, K. 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia Jilid II*. Jakarta: Badan Litbang Kehutanan.
- Hollman, P.C.H. 2004. Absorption, Bioavailability and Metabolism of Flavonoid. *Pharmaceutical Biology*. **Vol. 42**, pp. 74-83.

- Hussain, T.Z. 2015. Epidemiology of Group B Streptococcus in Saudi Parturient Women in a Private Hospital. *Obstetrisc & Gynecology: An International Journal*. **Vol. 2015**: 376062
- Ikrimah. 2013. Uji Ekstrak Etanol Daun Turi Merah (*Sesbania grandiflora* L. Pers) sebagai Alternatif Antibakteri terhadap *Klebisella Pneumonia* secara in Vitro. *Tugas Akhir*. Tidak diterbitkan, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang.
- Ipteknet. 2005. Tanaman Obat Indonesia: Turi. [http://www.iptek.net.id/ind/pd\\_tanobat/view.php?id=105](http://www.iptek.net.id/ind/pd_tanobat/view.php?id=105). Html. Diakses 22 Februari 2016
- Irsyandy, Y. 2008. *The Effect of Caterpillar Fungus (Cordyceps sinensis [Berk] Sacc) Toward Interleukin 2 Level in Paracetamol-Induced Mice (Mus musculus L)*. Pusat Penelitian Ilmu Kedokteran (PPIK). Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Maranatha
- Juliantina, F.R., Citra, D.A., Nirwani, B., Nurmasitoh, T., Bowo, E.T., 2008. Manfaat Sirih Merah (*Piper Crocatum*) Sebagai Agen Anti Bakterial Terhadap Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif. *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Indonesia*.
- Kementerian Kesehatan RI. 2014. Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI Mother's day. [www.depkes.go.id](http://www.depkes.go.id). diakses 4 Februari 2016.
- Keyu., Feng Chen and Chuan Li., 2012. Absorption, Disposition, and Pharmacokinetics of Saponins from Herbs: What Do We Know and What Do We Need to Know More?. *Current Drug Metabolism*. **13**:577-598
- Koenig, J.M., and Keenan, W.J., 2009. Group B Streptococcus and Early-Onset Sepsis in the Era of Maternal Prophylaxis. *Pediatric Clin North Am*. **56**(3):689
- Kresno, S.B. 2010. *Imunologi : Diagnosis dan Prosedur Laboratorium*. Ed Kelima. Badan Penerbit FKUI : Jakarta
- Kronforst, K.D., Mancuso C.J., Pettengill Matthew., Ninkovic Jana., Coombs M.R., Stevens C., et al., 2012. A Neonatal Model of Intravenous Staphylococcus epidermidis Infection in Mice < 24 h Old Enables Characterization of Early Innate Immune Responses. *Plos one*. **Vol. 7**. Issue 9
- Kusuma S.A, 2009. *Staphylococcus aureus*. Bandung: Universitas Padjajaran
- Kusumawati, D. 2004. *Bersahabat dengan Hewan Coba*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta
- Kwak Daniel, J., Augustine, N.H., Borges, W.G., Joyner, J.L., Green, W.F., Hill, H.R., 2000. Intracellular and extracellular cytokine production by human mixed mononuclear cells in response to grou B Streptococci. *Infection and immunity*. P. 320-327.

- Lancefield, R and Hare, R., 2000. The Serological Differentiation of Parhogenic And Non-Pathogenic Strains of Hemolytic Streptococci From Parturient Women. *PubMed Central*. **61** (3): 335-349
- Long, J.A and Mark, E.L. 1911. The Maturation of the Egg of the Mouse. Carnegie Inst. *Wishington Pub* 142: 1-72.
- Lowdermilk, L.D. 2010. *Postpartum Complications Chapter 25*.
- Madoff, L.C. 2014. Group B Streptococcus: Virulence Factors and Pathogenic Mechanisms.
- Manuaba. 2009. *Memahami Kesehatan Reproduksi Wanita*. EGC: Jakarta
- Mardiana, H. 2016. Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Turi Merah terhadap Penurunan Kadar Sitokin Proinflamasi IL-6, IL-8 dan Jumlah Koloni Bakteri pada mencit (*Mus musculus*) nifas yang Diinokulasi *Streptococcus agalactiae*. Tesis. Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.
- Maroney, M. 2005. Streptococcus agalactiae. *Resources Milk Money*. Milk Money Fact Sheet 02
- Mason, K.L., Aronoff, MD., 2012. Postpartum Group A *Streptococcus agalactiae* sepsis and maternal immunology. *Am Journal Reprod immunol*. **67**(2) :91-100
- Mayer, G. 2016. Immunology-Chapter One Innate (Non-Specific) Immunity. *Microbiology and Immunology On-line*. Diakses 24 Februari 2016.
- Muller, A.E., Oostvogel, P.M., Eric A.P., Streegers and Dorr, J.P., 2006. Morbidity Related to Maternal Group B Streptococcal Infection. *Acta Obstetricia et Gynecologica*. **85**: 1027-1037
- Nahid, A., Aghdas, S., and Hatami, F., 2009. Bacteria Isolated From Post-Partum Infections. *Journal of Family and Reproductive Health*. Vol.**3** No.2
- Naim, R. 2004. Senyawa Antimikroba dari Tanaman. Harian Kompas edisi 15 September 2004. <http://kompas.com/kompas-cetak/contactus.html>. diakses 24 Februari 2016
- Nasution, Ns., Nista, D., Natalia, H., Hindrawati, S., 2010. *Keunggulan Turi sebagai pakan Ternak*. Palembang: Ditjen Peternakan dan Keswan BPTU Sembawa
- Naqi taha, Al-dawah, N.J., Al-safi, S., Aboktifa, M., Al-Zeiny, S., Al-Shimmery, B., Al-Bayati, M.T.N., 2016. Comparative of Phytochemical and Antimicrobial of Sesbania garandiflora Leaves Extract. *Departement of physiology and Pharmacology*.
- Nettleman, M. 2015. Group B Strep Infection Overview. *Emedicine health*. diakses 16 Februari 2016

- Newman Hans. 2015. Microbiology in Pictures. Internet. <http://www.microbiologyinpictures.com/contact.html>. diakses 29 September 2016.
- Noviardi, R. 2008. Uji Daya Antibakteri Ekstrak Bunga Turi Merah (*Sesbania grandiflora* L. Pers) terhadap *Pseudomonas aeruginosa* isolat ATCC 27853 secara in vitro. *Tugas Akhir*. Tidak diterbitkan, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang.
- Nuria, M. C., Faizatun A., dan Sumantri., 2009. *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jarak Pagar (Jatropha Curcas L) Terhadap Bakteri Staphylococcus aureus ATCC 25923, Escherichia coli ATCC 25922, Dan Salmonella typhi ATCC 1408*. *Jurnal Ilmu – ilmu Pertanian*. **5** (2): 26-37.
- Patra, K.M., Kumar, K and Nandi, S., 2013. Neutrophil Functions and Cytokines Expression Profile in Buffaloes with Impending Postpartum Reproductive Disorders. *Asian Australas J. Anim. Sci.* **26**. (10) :1406-1415
- Poeloengan, M., Andriani., 2013. Kandungan Senyawa Aktif dan Daya Antibakteri Daun Sambung Darah. Laboratorium Bakteriologi. Balai Besar Penelitian. Diakses 22 Februari 2016.
- Popescu Florica. 2013. Microbiological study of antepartum and postpartum vaginal flora. Clinical and laboratory research and therapeutical particularities. *University of medicine and pharmacy of Craiova*
- Prawirohardjp, S. 2009. *Ilmu Kebidanan*. Jakarta: Yayasan Bina Pustaka
- Pudjiati, S.R. 2010. *Mechanism of Host Defense In Genital Area*. SMF (Bagian Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin RSUP Dr. Sardjito/Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada.
- Rahman, A. 2010. Uji Potensi Antimikroba Ekstrak Bunga Turi Merah (*Sesbania grandiflora* L.Pers) terhadap *Salmonella typhi* secara in Vitro. *Tugas Akhir*. Tidak diterbitkan. Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang
- Rajagopal, L. 2009. Understanding the regulation of Group B Streptococcal virulence factors. *Future Microbiol.* **4**(2): 201-221
- Riasparkle. 2013. Reflection 1: Model Organisms. <https://riasparklebiochemistry.wordpress.com>. Diakses 29 September 2016
- Rosati, E., Fetturacciari, K., Scaringi, L., Cornacchione, P., Sabatini, R., Mezzasoma, L, *et al.*, 1998. Cytokine Response to Group B Streptococcus Infection in Mice. *Scand Journal Immunol.* **47**, 314-323
- Runner, M.N and Ladman, A.J. 1950. The time of Ovulation and its diurnal regulation in the post-parturition mouse. *Anat. Rec.* **108**: 343-361
- Sabir, A. 2005. Aktivitas antibakteri flavonoid propolis *Trigona* sp terhadap bakteri *Streptococcus mutans* (in vitro). *Journal Dental (Majalah Kedokteran Gigi)*. **Vol. 38** (3) 135-141

- Sahoo, M., Olvera, C.L., Barrio, D.L and Refebio., 2011. Role of the Inflammasome, IL-1 $\beta$  and IL-18 in Bacterial Infections. *The Scientific World Journal*. **11**, 2037-2050
- Schulte, W., Bernhagen, J., Bucala, R., 2013. Cytokines in sepsis: potent immunoregulators and potential therapeutic targets-an updated view. *Mediators of Inflammation*. Vol. **16**.
- Serafini, M., Ghiseli, A., & Ferro-Luzzi, A., 1996. In vivo Antioxidant Effect of Green Tea and Black Tea in Man. *Eur J Clin Nutr*. 50(1): 28-32
- Serrano J., Pimia Ritta P., Dauer Andreas., Aura Anna M. 2016. Tannin: Current Knowledge of Food Sources Intake, Bioavailability and Biological Effect. *Molecular Nutrition and Food Research*. **53**. S310-S329
- Spargen, F.P. 2012. Proinflammatory Immune Response and Puerperal Group A Streptococcal Sepsis. *Laboratory Medicine and Biomedical Science*.
- Spooner, C.E., Markowitz, N.P., Saravolatz, L.D., 2006. The Role of Tumor Necrosis Factor in Sepsis. *Clinical Immunology and Immunopathology*. **62** (1) pp.S11-S17
- Subowo. 2009. *Immunobiologi*. Ed 2. Sagung Seto. Jakarta. Hal. 121-146
- Suharto, M.A.P., Edy, H.J., dan Dumanauw, J.M., 2011. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Saponin dari Ekstrak Methanol Batang Pisang Ambon (*Musa paradisiaca* var. *Sapientum* I.). *Ejournal Unsra*. **8**(11): 86-92.
- Suparjo. 2011. Saponin: Peran dan Pengaruhnya bagi ternak dan manusia. *Laboratorium Makanan Ternak Fakultas Peternakan Universitas Jambi*.
- Sverrisdottir, B.B., Gjertsson I., 2012. Immune modulation in *Staphylococcus aureus* induced Arthritis by a combination of antibiotics and inhibition of Interleukin-15. University of Iceland Faculty of Medicine, *School of Health Science*. Sweden.
- Thoha M. Yusuf., Sitanggang A.F., Hutahayan Daniel R.S., 2009. Pengaruh Pelarut Isopropil Alkohol 75% dan Etanol 75% terhadap Ekstraksi Saponin dari Biji Teh dengan Variabel Waktu dan Temperatur. *Jurnal Teknik Kimia*. Vol. **16**. 3
- Todar, K. 2011. *Staphylococcus aureus* and Staphylococcal Disease. <http://textbookofbacteriology.net/staph.html>. Diakses 24 Februari 2016
- Vallejo, G.J., Baker, J.C., Edwards, S.M., 1996. Roles of The Bacterial Cell Wall and Capsule in Induction of Tumor Necrosis Factor Alpha by Type III Group B Streptococci. *Journal Infection and Immunity*. P. 5042-5046.
- Vipin Kachroo., Arun Gupta. K., Rajesh. G., 2011. Antimicrobial Activity of *Sesbania Grandiflora* (L) Pers. *International Research Journal Of Pharmacy*. **2** (7) 85-87

- Virgihani, K. 2011. Tinjauan Resistensi *Streptococcus agalactiae* Penyebab Mastitis Subklinis di Perternakan Sapi Perah Kunak Bogor terhadap beberapa Antibiotik. Studi Kasus. <http://repository.ipb.ac.id/handle/123456789/52993>. diakses tanggal 16 Februari 2016
- Weissenbacher, R.E., Wirth, M., Mylonas, I., Ledger, W.J., Witkin, S.S., 2013. Immunology of Female Genital Tract. *Springer Science & Business Media*. Hal : 184
- Widia, M. 2016. Pengaruh pemberian Ekstrak Daun Turi Merah (*Sesbania grandiflora* L.Pers) terhadap koloni bakteri, kadar TGF- $\beta$  dan IL-10 pada mencit nifas model infeksi nifas yang diinokulasi bakteri *Streptococcus agalactiae*. Tesis. Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang
- Wong, A.W. 2015. Postpartum infection. *Medscape*. 16 Februari 2016
- Woods, C.J. 2015. Streptococcus Group B Infections Treatment & Management. *Medscape*. diakses 16 Februari 2016
- Yusniawati, E. 2015. Efek Antibakteri Ekstrak Etanol daun Turi Merah (*Sesbania grandiflora* L. Pers) terhadap *Staphylococcus aureus* Isolat 100-SV secara In Vitro. *Tugas Akhir*. Tidak diterbitkan, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang.
- Yusuf, H dan Duwianta., 2012. *Informasi Singkat Benih; Sesbania grandiflora* (L) Poiret. BPHT Sulawesi
- Zamzam. 2014. Identifikasi *Streptococcus agalactiae*. Internet. <http://t3leporters./2014/01/identifikasi-streptococcus.html>. diakses tanggal 23 September 2016.

## SURAT KETERANGAN KELAIKAN ETIK



### KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN POLITEKNIK KESEHATAN KEMENKES MALANG

#### REKOMENDASI PERSETUJUAN ETIK *ETHICAL APPROVAL RECOMMENDATION* Reg.No.: 246 / KEPK-POLKESMA/2016

Komisi Etik Penelitian Kesehatan Politeknik Kemenkes Malang telah menyelenggarakan Pertemuan pada tanggal 16 Agustus 2016 untuk membahas protokol penelitian

*The Ethic Committee of Polytechnic of Health The Ministry of Health in Malang has convened a meeting on August 16<sup>th</sup> 2016 to discuss the research protocol*

Judul <i>Entitled</i>	<b>Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Turi Merah (<i>Sesbania Grandiflora L.Pers</i>) Terhadap Penurunan Tnf-A, Il-1<math>\beta</math> Dan Jumlah Koloni Bakteri Pada <i>Mus Musculus</i> Nifas Yang Diinfeksi <i>Streptococcus Agalactiae</i></b> <i>The Effect Of Extract Turi Merah Leaves (Sesbania Grandiflora L. Pers) To Decrease Tnf-A, Il-1<math>\beta</math> And Number Of Colonia Bacteries In Mice (Mus Musculus) Post Partum Infected By Streptococcus Agalactiae</i>
Peneliti <i>Researcher</i>	<b>Husna Maulida</b>

Dan menyimpulkan bahwa protokol tersebut **telah memenuhi semua persyaratan etik**  
*And concluded that the protocol has fulfilled all ethical requirements*

Malang, 18 Agustus 2016

  
**Dr. ANNASARI MUSTAFA.,MSc.**  
Head of Committee

Lampiran 2

**SURAT KETERANGAN EKSTRAKSI DAUN TURI MERAH (*Sesbania grandiflora* L.Pers)**



**KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
FAKULTAS PERTANIAN**

Jalan Veteran Malang - 65145, Jawa Timur, Indonesia  
Telepon: +62341-551611 pes. 207-208; 551665; 565845; Fax. 560011  
website: www.fp.ub.ac.id email: faperta@ub.ac.id  
Telepon Dekan: +62341-566287 WD I: 569218 WD II: 569219 WD III: 569217 KTU: 575741  
JURUSAN: Budidaya Pertanian: 569984 Sosial Ekonomi Pertanian: 580054 Tanah: 553623  
Hama dan Penyakit Tumbuhan: 575843 Program Pasca Sarjana: 576273

Malang, 23 Maret 2016

Nomor : 2038 /UN10.4/DN/2016

Lampiran : -

Perihal : Laporan Hasil Ekstraksi Daun Turi Merah

Nama Pemilik Sampel : Husna Maulida  
Mahasiswa Program Studi Magister Kebidanan FK-UB  
Pengujian : Ekstrak Daun Turi Merah

Kode Sampel	Bahan Baku	Hasil Ekstraksi	Metode Ekstraksi
-	200 gr	53,88 gr	Maserasi dan Evaporasi



a.n. Dekan,  
Ketua Jurusan HPT,

Dr. Ir. Ludy Pantja Astuti, MS.  
NIP. 19551018 198601 2 001

Ketua Laboratorium Penyakit,

Prof. Dr. Ir. Tutung Hadiastono, MS.  
NIP. 195210281979031003



Lampiran 3

**SURAT KETERANGAN UJI KUALITATIF FITOKIMIA EKSTRAK DAUN TURI MERAH (*Sesbania grandiflora* L.Pers)**



**KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
LABORATORIUM FARMASI**

Jalan Veteran Malang - 65145, Jawa Timur - Indonesia  
Telp. (62) (0341) 569117, 567192 Ext. 110 - Fax. (62) (0341) 564755  
<http://farmasi.fk.ub.ac.id/labfarmasi> e-mail : [labfarmasi@ub.ac.id](mailto:labfarmasi@ub.ac.id)

Nomor : 004/UN10.7/LAB.FARMASI/2016  
Lampiran : -  
Perihal : Surat Keterangan Uji Kualitatif Fitokimia

25 AUG 2016

Memenuhi permohonan Saudara :

Nama : Husna Maulida

NIM : 146070400111006

Keterangan : Program Studi Magister Kebidanan, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya

Kami menerangkan bahwa yang bersangkutan telah melakukan uji kualitatif fitokimia untuk mengetahui adanya kandungan saponin, tanin dan flavonoid pada ekstrak daun Turi Merah (*Sesbania grandiflora* L. Pers) di Laboratorium Farmasi, Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Adapun proses pengujiannya adalah sebagai berikut :

- **Bahan** : Aquadest, asam klorida 2 N,  $\text{FeCl}_3$  1%, gelatin 1%, ethanol 96%, HCl p.a, serbuk Mg, n-butanol
- **Alat** : Tabung reaksi, rak tabung reaksi, mikropipet 1 ml, tip, pipet tetes
- **Metode** :

**Uji Saponin**

Sebanyak 0,5 gram serbuk yang diperiksa dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 10 ml air panas, didinginkan dan kemudian kocok kuat-kuat selama 10 detik (Jika zat yang diperiksa berupa sediaan cair, encerkan 1 ml sediaan yang diperiksa dengan 10 ml air dan kocok kuat-kuat selama 10 menit). Terbentuk buih yang mantap selama tidak kurang dari 10 menit setinggi 1-10 cm. Pada penambahan 1 tetes asam klorida 2N, buih tidak hilang. (MMI, 1989)

**Uji Tanin**

1. Ekstrak ditambahkan  $\text{FeCl}_3$  1% : Gallotanin dan ellagotanin akan memberikan endapan biru-hitam dan condensed tanin memberikan endapan hitam kehijauan. (Trease dan Evan, 1996)
2. Ekstrak ditambah larutan gelatin 1% yang mengandung NaCl, jika timbul endapan berarti mengandung tanin.

**Uji Flavonoid**

Uji flavonoid menggunakan metode Wilstater. Sejumlah sampel dilarutkan dalam pelarutnya yaitu ethanol sebanyak 3 ml. Selanjutnya larutan sampel ditambahkan dengan HCl p.a sebanyak 0,5 ml dan serbuk Mg. Serbuk Mg ditambahkan hingga terjadi perubahan warna. Selanjutnya ditambahkan air suling dan 1 ml butanol. Reaksi positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna jingga (flavon), merah pucat (flavonol), merah tua (flavonon), atau hijau sampai biru (glikosida).

• **Hasil Uji Kualitatif Fitokimia yang diperoleh :**

No	Uji	Hasil	Keterangan
1	Saponin	Positif	Tinggi buih $\pm$ 1-1,5 cm stabil $\pm$ 10 menit.
2	Tanin	Positif	Terbentuk endapan hijau kehitaman dengan penambahan $\text{FeCl}_3$ 1% atau NaCl 1%.
3	Flavonoid	Positif	Terjadi perubahan warna dari hijau kekuningan menjadi hijau.

Demikian keterangan ini kami buat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.



Dahia Permatasari, M.Si., Apt  
NIK. 2009128404242001

Pemeriksa

Septian Era Yusindra, ST  
NIK. 2012058809262001

Lampiran 4

**SURAT KETERANGAN PEMBELIAN HEWAN COBA**

**DISTRIBUTOR HEWAN COBA  
MENCIT DAN TIKUS**

*Jl. Wagir, Malang telp. 08563569428*

**SURAT KETERANGAN PEMBELIAN HEWAN COBA**

**NOMOR : 003/HC/4/2016**

Dengan ini menerangkan bahwa:

Nama : - Heppy Rina Mardiana  
- R. Maria Veronica Widiatrilupiv  
- Tut Rayani Aksohimi Wijayanti  
- Husna Maulida  
Status : Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya  
Hp/ Telp. : 082 232 702 986

telah membeli Mencit betina Balb/C dengan kriteria sebagai berikut:

Umur kehamilan : 13 hari

Digunakan untuk : **PENELITIAN DENGAN JUDUL**

- Pengaruh pemberian ekstrak daun turi merah terhadap penurunan IL-6 dan IL-8 pada mencit nifas yang diinduksi *Streptococcus agalactiae*
- Pengaruh pemberian ekstrak daun turi merah terhadap penurunan TGF beta dan IL 10 pada mencit nifas yang diinduksi *Streptococcus agalactiae*
- Pengaruh pemberian ekstrak daun turi merah terhadap penurunan NFkB dan IFN gamma pada mencit nifas yang diinduksi *Streptococcus agalactiae*
- Pengaruh pemberian ekstrak daun turi merah terhadap penurunan TNF alfa dan IL 1 beta pada mencit nifas yang diinduksi *Streptococcus agalactiae*

Kondisi Hewan : Sehat

Demikian surat keterangan kami buat untuk dapat digunakan sebagaimana mestinya.

Malang, 5 April 2016



Ttd.

M. Basyaruddin, M.Si

Lampiran 5

**HASIL PEMERIKSAAN MIKROBIOLOGI KLINIK BAKTERI *Streptococcus agalactiae* DI DARAH**

**1. Kelompok Kontrol**

**HASIL PEMERIKSAAN MIKROBIOLOGI KLINIK**

No. Lab. : 6065 Tanggal : 18/8/16  
 No. Reg : \_\_\_\_\_ Nama Dokter : \_\_\_\_\_  
 Nama Penderita : Happy HC UB Dx klinis : \_\_\_\_\_  
 Umur Penderita : \_\_\_\_\_ Spesimen : Darah Menci

1. Screening specimen : Diterima / tidak diterima  
 2. Sediaan langsung

GRAM		Tahan Asam (ZN)		Metakromasi (Neisser)		Spora (SF)		KOH	
Kokus Gram (-)		Non SPS	(+) .....	Morfologi khas	(+) / (-)	Spora (+)		Morfologi khas	(+) / (-)
Kokus Gram (+)		BTA	(-) .....	C. diphtheriae		Spora (+)		jamur	
Batang Gram (-)		SPS	S .....						
Batang Gram (+)			P .....						
Budding cell / Hyphae Pseudohyphae (Morfologi khas Jamur)			S .....						
Lain-lain									

3. Biakan / Kultur : *Streptococcus agalactiae* (Grup B streptococcus)  
 4. Hitung koloni (urine) : \_\_\_\_\_  
 5. Antibiotika yang direkomendasikan

JENIS OBAT	JENIS OBAT	JENIS OBAT
<b>A. PENICILLIN &amp; DERIVATNYA</b>	<b>E. CEPHALOSPORIN</b>	<b>G. CARBAPENEM</b>
1. Penicillin G 10 ug	1. Cefepime	1. Meropenem
2. Amoxycillin 25 ug	2. Cefpirome	2. Imipenem
3. Amoxycillin & Clavulanic acid	3. Cefoperazone	3. Doripenem
4. Ampicillin 10 ug	4. Cefditoren	4. Ertapenem
5. Ampicillin / Sulbactam 10 ug	5. Cefadroxil 30 ug	5.
6. Benzylpenicillin	6. Cefotaxim 30 ug	6.
7. Piperacillin	7. Ceftriaxone 30 ug	<b>H. TETRACYCLINE</b>
8. Piperacillin / Tazobactam	8. Cefuroxim 30 ug	1. Tetracycline 30 ug
9. Oxacillin	9. Cephadrine 30 ug	2. Doxycycline
10. Cloxacillin	10. Cefalexin	3.
11.	11. Cefazolin	4.
12.	12. Cefixime	<b>I. LAIN - LAIN</b>
<b>B. FOSFOMYCIN</b>	13. Cefazidime	1. Chloramphenicol 30 ug
<b>C. AMINOGLYCOSIDES</b>	14. Ceftizoxime	2. Nalidixid acid 30 ug
1. Gentamycin 30 ug	15. Cefoxitin	3. Nitrofurantoin 200 ug
2. Netilmicin 30 ug	16.	4. Colistine 25 ug
3. Amikacin 30 ug	17.	5. Cotrimoxazole (1.25+23.75) ug
4.	<b>F. MACROLIDES</b>	6. Vancomycin
5.	1. Erythromycin 15 ug	7. Linezolid
<b>D. FLUOROQUINOLON</b>	2. Lincomycin 10 ug	8. Tigecycline
1. Ciprofloxacin	3. Clindamycin	9. Ritampicin
2. Ofloxacin	4. Azithromycin	10. Trimethoprim/Sulfamethoxazole
3. Levofloxacin	5. Clarithromycin	11.
4.	6. Tobramycin	12.
5.	7.	

6. Saran / Komentar Expertise : S = sensitif ; R = resisten.

*[Signature]*  
 Dokter Laboratorium



## 2. Kelompok Perlakuan 1

**INSTALASI MIKROBIOLOGI KLINIK**  
RSUD. Dr. SAIFUL ANWAR MALANG

**HASIL PEMERIKSAAN MIKROBIOLOGI KLINIK**

No. Lab. : G. 614. Tanggal : 18/8/16  
 No. Reg : \_\_\_\_\_ Nama Dokter : \_\_\_\_\_  
 Nama Penderita : Happy. Fk. UB. Dx klinis : \_\_\_\_\_  
 Umur Penderita : \_\_\_\_\_ Spesimen : Darah Monoc.

1. Screening specimen : (C) Diterima / tidak diterima  
 2. Sediaan langsung

GRAM	Tahan Asam (ZN)	Metakromasi ( Neisser )	Spora (SF)	KOH
Kokus Gram (-)	Non SPS	(+) / (-)	Spora (+)	Morfologi khas (+) / (-)
Kokus Gram (+)	BTA	Morfologi khas C. diphtheriae	Spora (+)	Morfologi khas jamur
Batang Gram (-)	SPS			
Batang Gram (+)	S			
Budding cell / Hyphae	P			
Pseudohyphae (Morfologi khas Jamur)	S			
Lain-lain				

3. Biakan / Kultur : Streptococcus agalactiae (Grup B streptococcus)  
 4. Hitung koloni (urine) : \_\_\_\_\_  
 5. Antibiotika yang direkomendasikan

JENIS OBAT	JENIS OBAT	JENIS OBAT
<b>A. PENICILLIN &amp; DERIVATNYA</b>	<b>E. CEPHALOSPORIN</b>	<b>G. CARBAPENEM</b>
1. Penicillin G 10 ug	1. Cefepime	1. Meropenem
2. Amoxycillin 25 ug	2. Cefpirome	2. Imipenem
3. Amoxycillin & Clavulanic acid	3. Cefoperazone	3. Doripenem
4. Ampicillin 10 ug	4. Cefditoren	4. Ertapenem
5. Ampicillin / Sulbactam 10 ug	5. Cefadroxil 30 ug	5.
6. Benzylpenicillin	6. Cefotaxim 30 ug	6.
7. Piperacillin	7. Ceftriaxone 30 ug	<b>H. TETRACYCLINE</b>
8. Piperacillin / Tazobactam	8. Cefuroxim 30 ug	1. Tetracycline 30 ug
9. Oxacillin	9. Cephadrine 30 ug	2. Doxycycline
10. Cloxacillin	10. Cefalexin	3.
11.	11. Cefazolin	4.
12.	12. Cefixime	<b>I. LAIN - LAIN</b>
<b>B. FOSFOMYCIN</b>	13. Ceftazidime	1. Chloramphenicol 30 ug
<b>C. AMINOGLYCOSIDES</b>	14. Ceftizoxime	2. Nalidixid acid 30 ug
1. Gentamycin 30 ug	15. Cefoxitin	3. Nitrofurantoin 200 ug
2. Netilmicin 30 ug	16.	4. Colistine 25 ug
3. Amikacin 30 ug	17.	5. Cotrimoxazole (1.25+23.75) ug
4.	<b>F. MACROLIDES</b>	6. Vancomycin
5.	1. Erythromycin 15 ug	7. Linezolid
<b>D. FLUOROQUINOLON</b>	2. Lincomycin 10 ug	8. Tigecycline
1. Ciprofloxacin	3. Clindamycin	9. Ritampicin
2. Ofloxacin	4. Azithromycin	10. Trimethoprim/Sulfamethoxazole
3. Levofloxacin	5. Clarithromycin	11.
4.	6. Tobramycin	12.
5.	7.	

6. Saran / Komentar Expertise : S = sensitif ; R = resisten.

*[Signature]*

### 3. Kelompok Perlakuan 2

RUMAH SAKIT LABORATORIUM SENTRAL  
RSUD "Dr. SAIFUL ANWAR" MALANG

#### HASIL PEMERIKSAAN MIKROBIOLOGI KLINIK

No.Laboratorium : U-264 Tanggal : 11 AUG 2016  
No.Reg : ..... Nama dokter : .....  
Nama penderita : Happy Dx klinis : .....  
Umur penderita : ..... Spesimen : darah Meneit B

#### HASIL :

##### 1. Sediaan langsung :

1.1 Gram : .....  
1.2.Tahan asam (ZN) : Non SPS / SPS\* : .....  
1.3 Metakromasi (Neisser) : .....  
1.4 Spora (SF) : .....

\*) : coret salah satu Tidak ditemukan pertumbuhan koloni kuman. (aerob)

2. Biakan / kultur : .....

##### 3. Tes kepekaan antibiotika :

Sensitif sedang	Sensitif kuat
.....	.....
.....	.....
.....	.....
.....	.....
.....	.....
.....	.....
.....	.....

##### 4. Saran / Komentar Laboratorium

Dokter Laboratorium,



#### 4. Kelompok Perlakuan 3

##### INSTALASI LABORATORIUM SENTRAL RSUD "Dr. SAIFUL ANWAR" MALANG

##### HASIL PEMERIKSAAN MIKROBIOLOGI KLINIK 11 AUG 2016

No.Laboratorium : 6-263. Tanggal : .....  
No.Reg : ..... Nama dokter : .....  
Nama penderita : Happy. Dx klinis : .....  
Umur penderita : ..... Spesimen : darah mencret

##### HASIL :

##### 1. Sediaan langsung :

1.1 Gram : .....  
1.2.Tahan asam (ZN) : Non SPS / SPS\* : .....  
1.3 Metakromasi (Neisser) : .....  
1.4 Spora (SF) : .....

\*) : coret salah satu

Tidak ditemukan pertumbuhan koloni kuman. (aerob)

2. Biakan / kultur : .....

##### 3. Tes kepekaan antibiotika :

Sensitif sedang	Sensitif kuat
.....	.....
.....	.....
.....	.....
.....	.....
.....	.....
.....	.....
.....	.....

##### 4. Saran / Komentar Laboratorium

Dokter Laboratorium,



Lampiran 6

**BERAT BADAN MENCIT (GRAM)**

KELOMPOK	NO	TANGGAL												
		18/07	19/07	20/07	21/07	22/07	23/07	24/07	25/07	26/07	27/07	28/07	29/07	30/07
<b>KONTROL</b> (Injeksi <i>Streptococcus</i> <i>agalactiae</i> )	1	38	39	39	40	40	42	26 ( P)	-	-	-	-	-	-
	2	31	31	33	34	33	34	23 (P)	-	-	-	-	-	-
	3	33	35	35	38	38	38	39	29 (P)	-	-	-	-	-
	4	29	29	30	31	30	31	30	25 (P)	-	-	-	-	-
	5	34	36	37	38	38	39	41	25 (P)	-	-	-	-	-
	6	34	34	36	37	38	36	34	34	31 (P)	-	-	-	-
	7	34	36	38	38	37	38	40	42	32 (P)	-	-	-	-
	8	41	43	41	46	47	48	52	52	54	40 (P)	-	-	-
<b>P1</b> ( <i>Streptococcus</i> <i>agalactiae</i> + ekstrak daun turi dosis 125 mg/kg/BB)	1	30	33	33	34	34	34	34	36	27 (P)	-	-	-	-
	2	32	32	33	34	32	32	33	32	27 (P)	-	-	-	-
	3	32	34	33	34	34	34	36	39	30 (P)	-	-	-	-
	4	34	34	34	34	33	34	34	34	25 (P)	-	-	-	-
	5	24	25	27	27	30	31	30	33	26 (P)	-	-	-	-
	6	34	35	39	39	37	38	43	44	46	29 (P)	-	-	-
	7	45	45	44	46	44	46	49	50	55	34 (P)	-	-	-
	8	34	32	35	36	35	37	36	36	38	39	41	45	34 (P)

KELOMPOK	NO	TANGGAL												
		18/07	19/07	20/07	21/07	22/07	23/07	24/07	25/07	26/07	27/07	28/07	29/07	30/07
<b>P2</b> (Streptococcus agalactiae + ekstrak daun turi dosis 250 mg/kg/BB)	1	37	37	38	38	38	40	39	41	46	29 (P)	—	—	—
	2	35	33	35	36	38	38	40	48	51	32 (P)	—	—	—
	3	34	35	35	36	36	39	39	42	43	35 (P)	—	—	—
	4	37	37	38	39	38	41	45	48	50	55	36 (P)	—	—
	5	39	40	42	45	45	43	44	44	45	45	46	28 (P)	—
	6	32	32	33	35	36	36	35	37	37	39	39	28	27 (P)
	7	30	34	35	37	36	36	37	38	39	38	38	38	26 (P)
	8	28	29	30	30	31	31	30	30	33	35	34	29(P)	—
<b>P3</b> (Streptococcus agalactiae + ekstrak daun turi dosis 500 mg/kg/BB)	1	32	33	34	34	36	37	38	39	38	39	30 (P)	—	—
	2	28	29	30	30	32	32	33	34	33	34	28 (P)	—	—
	3	28	27	28	27	28	28	28	29	29	30	30	26 (P)	—
	4	41	40	42	42	43	44	44	43	44	45	45	32 (P)	—
	5	42	45	46	47	48	48	49	50	50	51	54	37 (P)	—
	6	41	42	43	43	44	44	44	45	46	46	45	35 (P)	—
	7	40	41	40	41	41	42	43	43	44	45	46	35 (P)	—
	8	36	37	38	39	39	40	40	41	42	45	46	47	31 (P)



Lampiran 7

**PEMBERIAN *Streptococcus agalactiae* PADA MENCIT NIFAS (ml)**

KELOMPOK	NO	TANGGAL				
		24 JULI	25 JULI	26 JULI	27 JULI	28 JULI
		09.00	09.00	09.00	09.00	09.00
<b>KONTROL</b> (injeksi <i>Streptococcus agalactiae</i> )	1	0,2	Terminasi			
	2	0,2	Terminasi			
	3	-	0,2	Terminasi		
	4	-	0,2	Terminasi		
	5	-	0,2	Terminasi		
	6	-	-	0,2	Terminasi	
	7	-	-	0,2	Terminasi	
	8	-	-	-	0,2	Terminasi

Lampiran 8

**PEMBERIAN *Streptococcus agalactiae* DAN EKSTRAK DAUN TURI MERAH (*Sesbania grandiflora* L. Pers) PADA MENCIT NIFAS (ml)**

KELOMPOK	NO	TANGGAL															
		24 JULI		25 JULI		26 JULI		27 JULI		28 JULI		29 JULI		30 JULI		31 JULI	
		S.A	E.TURI	S.A	E.TURI	S.A	E.TURI	S.A	E.TURI	S.A	E.TURI	S.A	E.TURI	S.A	E.TURI	S.A	E.TURI
		09.00	11.00	09.00	11.00	09.00	11.00	09.00	11.00	09.00	11.00	09.00	11.00	09.00	11.00	09.00	11.00
P1  (Streptococcus agalactiae + ekstrak daun turi dosis 125 mg/kg/BB)	1	-	-	-	-	0,2	1	Terminasi									
	2	-	-	-	-	0,2	1	Terminasi									
	3	-	-	-	-	0,2	1	Terminasi									
	4	-	-	-	-	0,2	1	Terminasi									
	5	-	-	-	-	0,2	1	Terminasi									
	6	-	-	-	-	-	-	0,2	1	Terminasi							
	7	-	-	-	-	-	-	0,2	1	Terminasi							
	8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,2	1	Terminasi	
P2  (Streptococcus agalactiae + ekstrak daun turi dosis 250 mg/kg/BB)	1	-	-	-	-	-	-	0,2	1	Terminasi							
	2	-	-	-	-	-	-	0,2	1	Terminasi							
	3	-	-	-	-	-	-	0,2	1	Terminasi							
	4	-	-	-	-	-	-	-	-	0,2	1	Terminasi					
	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,2	1	Terminasi			
	6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,2	1	Terminasi	
	7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,2	1	Terminasi	
	8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,2	1	Terminasi		

KELOMPOK	NO	TANGGAL															
		24 JULI		25 JULI		26 JULI		27 JULI		28 JULI		29 JULI		30 JULI		31 JULI	
		S.A	E.TURI	S.A	E.TURI	S.A	E.TURI	S.A	E.TURI	S.A	E.TURI	S.A	E.TURI	S.A	E.TURI	S.A	E.TURI
		09.00	11.00	09.00	11.00	09.00	11.00	09.00	11.00	09.00	11.00	09.00	11.00	09.00	11.00	09.00	11.00
<b>P3</b> (Streptococcus agalactiae + ekstrak daun turi dosis 500 mg/kg/BB)	1	-	-	-	-	-	-	-	-	0,2	1	Terminasi					
	2	-	-	-	-	-	-	-	-	0,2	1	Terminasi					
	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,2	1	Terminasi			
	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,2	1	Terminasi			
	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,2	1	Terminasi			
	6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,2	1	Terminasi			
	7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,2	1	Terminasi			
	8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,2	1	Terminasi	

## ANALISA DATA STATISTIK

### 1. Uji Normalitas Data

**Case Processing Summary**

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
Residual for TNF_Alpha	24	100.0%	0	.0%	24	100.0%
Residual for IL_1_Beta	24	100.0%	0	.0%	24	100.0%

**Tests of Normality**

	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Residual for TNF_Alpha	.113	24	.200*	.965	24	.547
Residual for IL_1_Beta	.109	24	.200*	.930	24	.097

\*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

### 2. Uji Homogenitas Ragam

#### Levene's Test of Equality of Error Variances<sup>a</sup>

Dependent Variable: TNF\_Alpha

F	df 1	df 2	Sig.
9.255	3	20	.000

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept+Kelompok

#### Levene's Test of Equality of Error Variances<sup>a</sup>

Dependent Variable: IL\_1\_Beta

F	df 1	df 2	Sig.
2.321	3	20	.106

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept+Kelompok

### 3. Uji Asumsi Normalitas Setelah Transformasi

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
Residual for Trans_TNF_Alpha	24	100.0%	0	.0%	24	100.0%

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Residual for Trans_TNF_Alpha	.153	24	.149	.954	24	.326

a. Lilliefors Significance Correction

### 4. Uji Asumsi Homogenitas Ragam Setelah Transformasi

Levene's Test of Equality of Error Variances<sup>a</sup>

Dependent Variable: Trans\_TNF\_Alpha

F	df1	df2	Sig.
3.821	3	20	.026

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept+Kelompok

### 5. Uji pengaruh pemberian ekstrak daun turi merah terhadap kadar TNF- $\alpha$

Case Processing Summary

	Cases					
	Included		Excluded		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
TNF_Alpha * Kelompok	24	100.0%	0	.0%	24	100.0%

Report

TNF\_Alpha

Kelompok	Mean	N	Std. Deviation
K	36.9699	6	16.36033
P1	27.0867	6	7.16639
P2	18.1567	6	6.41378
P3	17.4117	6	4.30462
Total	24.9062	24	12.16817

## NPar Tests

### Kruskal-Wallis Test

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank
TNF_Alpha	K	6	18.50
	P1	6	15.50
	P2	6	8.67
	P3	6	7.33
	Total	24	

Test Statistics<sup>a,b</sup>

	TNF_Alpha
Chi-Square	10.367
df	3
Asy mp. Sig.	.016

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Kelompok

Uji Lanjut Perlakuan       $z \ 5\%/2$       1.959964       $|R_i - R_j|$       5%      8.001229545

Perlakuan		P3	P2	P1	K	$ R_i - R_j  \ 5\%$
		7.333333	8.666667	15.5	18.5	
P3	7.33	0	1.333333	8.166667	11.16667	8.00123
P2	8.67		0	6.833333	9.833333	
P1	15.50			0	3	
K	18.50				0	
Notasi ( $ R_i - R_j  \ 5\%$ )		a	ab	bc	c	

6. Uji pengaruh pemberian ekstrak daun turi merah terhadap kadar IL-1 $\beta$

Case Processing Summary

	Cases					
	Included		Excluded		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
IL_1_Beta * Kelompok	24	100.0%	0	.0%	24	100.0%

Report

IL\_1\_Beta

Kelompok	Mean	N	Std. Deviation
K	55.00167	6	3.437298
P1	38.65167	6	4.666032
P2	36.09667	6	3.688223
P3	36.80667	6	9.871360
Total	41.63917	24	9.718856

Univariate Analysis of Variance

Between-Subjects Factors

	Value Label	N
Kelompok 1.00	K	6
2.00	P1	6
3.00	P2	6
4.00	P3	6

Levene's Test of Equality of Error Variances<sup>a</sup>

Dependent Variable: IL\_1\_Beta

F	df 1	df 2	Sig.
2.321	3	20	.106

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept+Kelompok

### Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: IL\_1\_Beta

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	1449.324 <sup>a</sup>	3	483.108	13.361	.000
Intercept	41611.685	1	41611.685	1150.816	.000
Kelompok	1449.324	3	483.108	13.361	.000
Error	723.168	20	36.158		
Total	43784.176	24			
Corrected Total	2172.492	23			

a. R Squared = .667 (Adjusted R Squared = .617)

## Post Hoc Tests

### Multiple Comparisons

Dependent Variable: IL\_1\_Beta

LSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
K	P1	16.35000*	3.471714	.000	9.10813	23.59187
	P2	18.90500*	3.471714	.000	11.66313	26.14687
	P3	18.19500*	3.471714	.000	10.95313	25.43687
P1	K	-16.35000*	3.471714	.000	-23.59187	-9.10813
	P2	2.55500	3.471714	.470	-4.68687	9.79687
	P3	1.84500	3.471714	.601	-5.39687	9.08687
P2	K	-18.90500*	3.471714	.000	-26.14687	-11.66313
	P1	-2.55500	3.471714	.470	-9.79687	4.68687
	P3	-.71000	3.471714	.840	-7.95187	6.53187
P3	K	-18.19500*	3.471714	.000	-25.43687	-10.95313
	P1	-1.84500	3.471714	.601	-9.08687	5.39687
	P2	.71000	3.471714	.840	-6.53187	7.95187






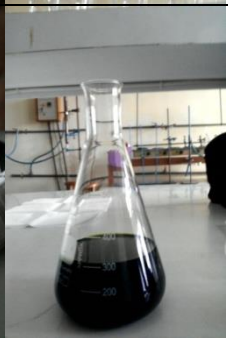


Based on observed means.

\*. The mean difference is significant at the .05 level.







## DOKUMENTASI PENELITIAN



## Proses ekstraksi daun turi merah

NO	URAIAN	DOKUMENTASI
1.	Timbang bahan yang akan diekstrak dengan jumlah (400 gram) dalam gelas beker dan tuangkan pelarut ethanol sebanyak 1000 ml.	 
2.	Rendam dan tutup bahan, selanjutnya diamkan pada suhu ruang selama 1 x 24 yang diletakkan pada shaker dengan kecepatan 120 rpm	 
3.	Setelah 1 x 24 jam, saring bahan dengan menggunakan kertas saring dan peralut yang diperoleh (yang mengandung bahan aktif) di evaporasi untuk menghilangkan pelarut	 
4.	Pelarut yang diperoleh dievaporasi untuk menghilangkan pelarut dengan menggunakan rotary vacuum evaporator dengan suhu 40°C	
5.	Hasil ekstraksi kemudian dimasukkan ke dalam botol plastik/kaca. Kemudian dihitung untuk menentukan dosis ekstrak daun turi merah per hari : Kebutuhan selama 1 hari = 1 ml EDT Dengan penyondean 1 ml/mencit/hari Kemudian EDT dimasukkan ke dalam wadah tertutup berdasarkan dosis perlakuan	


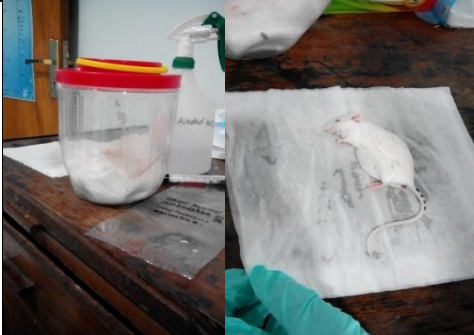
**Perlakuan hewan coba mencit (*Mus musculus*)**

NO	URAIAN	DOKUMENTASI
1.	Setelah masa aklimatisasi, mencit dikelompokkan menjadi 4 kelompok, kelompok kontrol (injeksi <i>Streptococcus agalactiae</i> ), Kelompok perlakuan 1 (S.A + ekstrak daun turi dosis 125 mg/kgBB), Kelompok perlakuan 2 (S.A + ekstrak daun turi dosis 250 mg/kgBB), Kelompok perlakuan 3 (S.A + ekstrak daun turi dosis 500 mg/kgBB)	
2.	Penimbangan Berat badan mencit dan pemberian makan dan minum mencit dilakukan setiap hari	
3.	Pemberian bakteri <i>Streptococcus agalactiae</i> dengan dosis $5 \times 10^3$ CFU/ml sebanyak 0,2 ml secara intravagina pada mencit postpartum 0 s/d 12 jam atau segera setelah melahirkan	
3.	Pemberian ekstrak daun turi merah dengan dosis 125 mg/kgBB, 250 mg/kgBB dan 500 mg/kgBB yang dilakukan sekali sehari setelah 2 jam injeksi <i>Streptococcus agalactiae</i> melalui vagina	









### Pengambilan darah melalui mata 24 jam

NO	URAIAN	DOKUMENTASI
1.	Persiapan alat dan bahan yang digunakan untuk pengambilan darah: pipa kapiler, tissue, tabung EDTA	
2.	Siapkan mencit, masukkan pipa kapiler secara perlahan melalui mata bagian dalam	
3.	Masukkan darah ke dalam tabung EDTA sebanyak 0,5-1 cc, tutup tabung EDTA dan goyang-goyangkan agar darah tidak bergumpal. Selanjutnya darah diserahkan ke Laboratorium PK untuk diperiksa darah lengkap	

### Pembedahan

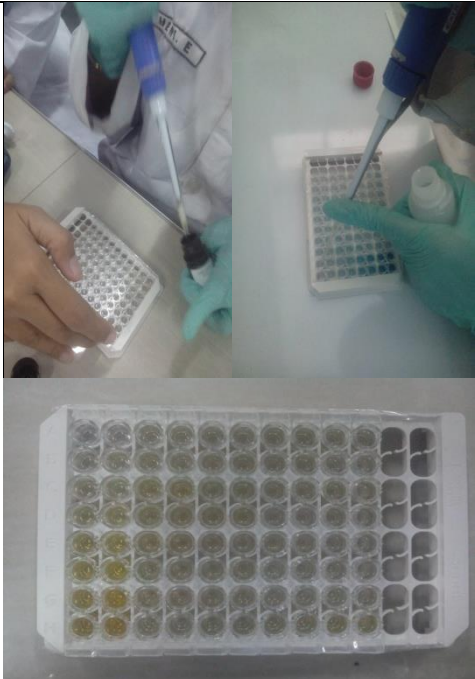
NO	URAIAN	DOKUMENTASI
1.	Persiapan alat dan bahan yang digunakan pada saat pembedahan : pinset, gunting, handscoon, papan bedah, tempat bangkai mencit, tabung EDTA, ependorf steril, kloroform, alkohol 70%, larutan PBS, laminaria, dan tissue	
2.	Mencit kelompok kontrol dimasukkan ke dalam wadah tertutup yang berisi cloroform, diitunggu sampai mencit benar-benar lemas dan tidak bergerak lagi. Selanjutnya mencit diletakkan pada tissue yang telah disemprotkan alkohol 70%, selanjutnya diletakkan dimeja bedah dengan perut menghadap ke atas dan pada bagian keempat kakinya ditancapkan dengan nahl	




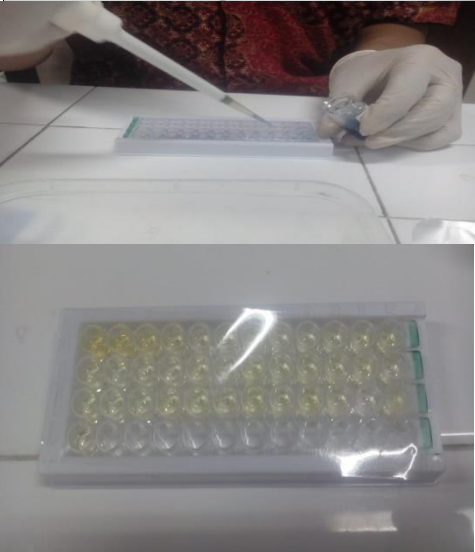
		
3.	<ul style="list-style-type: none"> <li>Dinding perut dibuka dengan menggunakan pinset dan gunting secara hati-hati, dilakukan sayatan pada samping kiri dan kanan sampai terlihat uterus dan jantung</li> <li>Darah diambil melalui spuit 1 cc, kemudian dimasukkan ke dalam tabung EDTA untuk persiapan dilakukan sentrifugasi</li> <li>Selanjutnya dilakukan pengambilan organ ginjal kiri dan kanan dan dimasukkan ke dalam ependorf steril yang berisi cairan PBS sebanyak 200 <math>\mu</math></li> <li>Selanjutnya pembedahan dilanjutkan dengan kelompok perlakuan 1, 2 dan 3 dengan metode yang sama dengan kelompok kontrol</li> <li>Setelah selesai bangkai mencit dimasukkan ke dalam kantung plastik dan dikubur</li> <li>Melakukan pemeriksaan TNF-<math>\alpha</math> dan IL-1<math>\beta</math> dengan metode ELISA</li> <li>Melakukan pemeriksaan jumlah koloni bakteri <i>Streptococcus agalactiae</i> pada organ ginjal mencit dilakukan dengan metode kultur.</li> </ul>	     
4.	Setelah pembedahan selesai, selanjutnya darah dilakukan setrifugasi dengan kecepatan 2500 rpm selama 15 menit untuk memisahkan plasma dan serum, dan selanjutnya plasma darah yang telah diambil disimpan diminus 80°C	

**Pemeriksaan kadar TNF- $\alpha$  dengan menggunakan ELISA kit *Biolegend* (430907)**

NO	URAIAN	DOKUMENTASI
1.	Persiapan alat dan bahan yang digunakan untuk pemeriksaan TNF- $\alpha$	
2.	Semua sampel dan reagent disiapkan disuhu ruangan sebelum digunakan $\pm$ 15 menit sebelum penggunaan	
3.	<ul style="list-style-type: none"> <li>Membuat larutan standar dengan penambahan 45 <math>\mu</math>L Assay buffer A sebagai stok solution diamkan selama 15 menit dan divortex (pipetting)</li> <li>Cuci well menggunakan 300 <math>\mu</math>L wash buffer, lalu cairan dibuang sempurna dan diulangi sebanyak 4 kali</li> <li>Tambahkan 50 <math>\mu</math>L Matrik A pada setiap well yang akan diisi standart, dan tambahkan 50 <math>\mu</math>L Assay Buffer A pada setiap well yang akan diisi sampel</li> <li>Selanjutnya tambahkan 50 <math>\mu</math>L standart pada setiap well yang sudah diisi Matrik A dan tambahkan 50 <math>\mu</math>L sampel pada setiap well yang sudah diisi Assay Buffer, selanjutnya tutup strips dan inkubasi selama 2 jam dengan dishaker 200 rpm</li> </ul>	  
4.	<ul style="list-style-type: none"> <li>Lakukan washing menggunakan 300 <math>\mu</math>L wash buffer dan ulangi sebanyak 4 kali</li> <li>Tambahkan 100 <math>\mu</math>L Mouse TNF-<math>\alpha</math> detection antibody solution pada setiap well, tutup strips dan inkubasi selama 1 jam disuhu ruang dengan di shaker 200 rpm</li> <li>Selanjutnya lakukan washing kembali dan tambahkan 100 <math>\mu</math>L Avidin HRPB solution pada setiap well, tutup strips dan inkubasi selama 30 menit di suhu ruang dengan shaker 200 rpm</li> </ul>	 

5.	<ul style="list-style-type: none"> <li>Lakukan washing kembali dan ulangi sebanyak 5 kali dan pada pencucian terakhir goyangkan plat antara 30-60 menit</li> <li>Selanjutnya tambahkan 100 <math>\mu</math>l substrat solution E pada setiap well, mix perlahan dan inkubasi selama 15 menit pada tempat gelap tanpa tutup</li> <li>Tambahkan 100 <math>\mu</math>l stop solution pada setiap well dan dibawa pada elisa reader pada gelombang 450 nm</li> </ul>	
----	--	--

**Pemeriksaan kadar IL-1 $\beta$  dengan menggunakan ELISA kit *Bioassay Technology Laboratory* (No: E0192Mo)**

NO	URAIAN	DOKUMENTASI
1.	Persiapan alat dan bahan yang digunakan untuk pemeriksaan IL-1 $\beta$	
2.	<ul style="list-style-type: none"> <li>Buat larutan standar sebanyak 5 dan masukkan ke dalam ependorf</li> <li>Masukkan sampel ke dalam well sebanyak 40 <math>\mu</math>l</li> <li>Inkubasi sampel selama 60 menit dan lakukan washing dengan menggunakan PBS sebanyak 3 x</li> <li>Campurkan Cromogen A dan B dan masukkan kedalam well sebanyak 100 <math>\mu</math>l, selanjutnya inkubasi selama 10 menit pada suhu kamar</li> <li>Kemudian tambahkan stop solution 50 <math>\mu</math>l dan baca dengan menggunakan elisa reader</li> </ul>	



**Pemeriksaan Jumlah Koloni Bakteri *Streptococcus agalactiae* pada organ ginjal**

NO	URAIAN	DOKUMENTASI
1.	<p>Persiapan alat dan bahan yang digunakan untuk pemeriksaan jumlah koloni bakteri <i>Streptococcus agalactiae</i> pada organ ginjal</p>	
2.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Organ ginjal mencit dihancurkan</li> <li>• Sampel ginjal yang telah dihancurkan di masukkan kedalam larutan pengencer garam fisiologis 0,85% sebanyak 9 ml (<i>Alkali Pepton Water</i>).</li> <li>• Masing-masing sampel dipipet 1 ml dan dimasukkan ke dalam cawan petri steril sesuai dengan labelnya.</li> <li>• Cawan Petri yang telah berisi sampel 1 ml dan medium <i>Plate Count Agar</i> steril 15 ml dicampur dengan cara mengoyang goyangkan diatas meja</li> <li>• Sampel dibiarkan bercampur dan mengeras bersama agar <i>Plate Count Agar</i> steril. Jika sampel sudah mengeras diinkubasi pada suhu 37<sup>0C</sup> selama 2 x 24 jam.</li> <li>• Jika sudah tampak adanya pertumbuhan bakteri, selanjutnya dilakukan pewarnaan gram dan perhitungan koloni dengan <i>Colony Counter</i></li> </ul>	

## RIWAYAT HIDUP

Husna Maulida, lahir di desa Trieng Lhoksukon, 1 November 1988 anak pertama dari tiga bersaudara dari bapak Iskandar dan Ibu Darnisah. Lulus SD Negeri 3 Lhoksukon Kab. Aceh Utara tahun 2001, lulus SMP Negeri 1 Lhoksukon Kab. Aceh Utara tahun 2004, lulus SMA Negeri 3 Putra Bangsa Lhoksukon Kab. Aceh Utara tahun 2007. Tahun 2007 melanjutkan pendidikan



Diploma III Kebidanan di Program Studi Kebidanan Universitas Al-Muslim Matangglumpangdua Bireuen, lulus tahun 2010. Melanjutkan pendidikan D IV Kebidanan di Politeknik Kesehatan Kemenkes Malang pada tahun 2010, lulus tahun 2011. Pada tahun 2014 mengambil pendidikan program studi Magister Kebidanan di Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.